

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand,
Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto,
Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge,
Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest,
Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. G. Gassner
Braunschweig

und

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich

BAND 16



Mit 202 Abbildungen

1950

VERLAG PAUL PAREY

Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Förstwesen
BERLIN SW 68, LINDENSTRASSE 44-47

ALLE RECHTE, AUCH DAS DER ÜBERSETZUNG, VORBEHALTEN · PRINTED IN GERMANY
DRUCK VON HERMANN BEYER & SÖHNE (BEYER & MANN)

INHALTSVERZEICHNIS ZUM 16. BAND

I. Abhandlungen

Ballarin, Claus, Untersuchungen über <i>Helminthosporium papaveris</i> . (Mit 25 Abb.)	399
Bereks, R., Serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen .	71
Bereks, R., Fortgeföhrte serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffel- pflanzen	491
Blumer, S. und Geering, J., Das Kirschbaumsterben im Baselland. (Mit 17 Abb.)	300
Breider, Hans, Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Weinrebe „ <i>Vitis vinifera</i> Gmelin“. (Mit 20 Abb.)	106
Diener, Theodor, Über die Bedingungen der Wurzelknöllchenbildung bei <i>Pisum sativum</i> L. (Mit 15 Abb.)	129
Fischer, Hans, Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Atmung pflanzlicher Gewebe. (Mit 24 Abb.)	171
Flensberg, Rudolf, Untersuchungen über die Warmwasserbeize unter besonderer Berücksichtigung des Warmwasserdauerbades. (Mit 26 Abb.)	1
Gäumann, Ernst, Über den Einfluß der Bodentemperatur auf die Symptom- ausprägung bei der Blattrollkrankheit der Kartoffeln	479
Gäumann, Ernst und Häfliger, Ernst, Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Entwicklung und den Schorfbefall der Kartoffelknollen. (Mit 17 Abb.)	85
Gäumann, Ernst und Jaag, Otto, Über das toxigene und das physikalisch indu- zierte Welken. (Mit 9 Abb.)	226
Gäumann, Ernst, Naef-Roth, Stephi und Ettlinger, L., Zur Gewinnung von Enniatinen aus dem Myzel verschiedener Fusarien	289
Gäumann, Ernst, Naef-Roth, Stephi und Miescher, Guido, Untersuchungen über das Lycomarasmin. (Mit 4 Abb.)	257
Heß, Hans, Ein Beitrag zum Problem der induzierten Abwehrreaktionen im Pflanzenreich. (Mit 2 Abb.)	41
Miescher, Guido, Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, ins- besondere auf <i>Solanum lycopersicum</i> L. (Mit 15 Abb.)	369
Müller-Stoll, W. R. und Hartmann, Ursula, Über den <i>Cytospora</i> -Krebs der Pappel (<i>Valsa sordida</i> Nitschke) und die Bedingungen für eine parasitäre Ausbreitung (Mit 16 Abb.)	443
Noll, A., Über anomale Kiesel säureablagerungen bei Gelbrostinfektion (<i>Puccinia glumarum</i>) des Weizens. (Mit 2 Abb.)	483
Pavlik, Miloš, Studies in the pH regulation by the fungous mycelium of <i>Fusarium seirpi</i> Lamb. et Fautr. (Mit 6 Abb.)	336

Stapp, C. , Weitere Untersuchungen über die Resistenz der deutschen Kartoffelsorten gegen <i>Bacterium phytophthorum</i> Appel	202
Stapp, C. , Die Spelzenbräune des Weizens	359
Stapp, C. und Marcus, O. , Untersuchungen über Vorkommen und Nachweis serologisch differenter Y-Viren der Kartoffel. (Mit 4 Abb.)	215

II. Kurze Mitteilungen

Bereks, R. , Über die Konservierung von Kartoffel-X-Virus durch Glycerin	508
Kastendieck, M. , Rosettenkrankheit und Boden	511
Mulder, D. , Der Zinkmangel im europäischen Obstbau	510
Usehdraweit, H. A. , Eine ernste Bedrohung der Teekulturen Indonesiens durch <i>Exobasidium vexans</i> Mass.	124

III. Besprechungen

Besprechungen	126, 512
-------------------------	----------

INHALTSVERZEICHNIS

Heft 1

I. Abhandlungen

Flensberg, Rudolf, Untersuchungen über die Warmwasserbeize unter besonderer Berücksichtigung des Warmwasserdauerbades. (Mit 26 Abb.)	1
Heß, Hans, Ein Beitrag zum Problem der induzierten Abwehrreaktionen im Pflanzenreich. (Mit 2 Abb.)	41
Bereks, R., Serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen .	71
Gäumann, Ernst und Häfliger, Ernst, Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Entwicklung und den Schorfbefall der Kartoffelknollen. (Mit 17 Abb.)	85
Breider, Hans, Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Weinrebe „ <i>Vitis vinifera</i> Gmelin“. (Mit 20 Abb.)	106

II. Kurze Mitteilungen

Uschdraweit, H. A., Eine ernste Bedrohung der Teekulturen Indonesiens durch <i>Exobasidium vexans</i> Mass.	124
--	-----

III. Besprechungen

Heft 2

I. Abhandlungen

Diener, Theodor, Über die Bedingungen der Wurzelknöllchenbildung bei <i>Pisum sativum</i> L. (Mit 15 Abb.)	129
Fischer, Hans, Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Atmung pflanzlicher Gewebe. (Mit 24 Abb.)	171
Stapp, C., Weitere Untersuchungen über die Resistenz der deutschen Kartoffelsorten gegen <i>Bacterium phytophthorum</i> Appel	202
Stapp, C. und Marcus, O., Untersuchungen über Vorkommen und Nachweis serologisch differenter Y-Viren der Kartoffel. (Mit 4 Abb.)	215
Gäumann, Ernst und Jaag, Otto, Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken. (Mit 9 Abb.)	226

Heft 3

I. Abhandlungen

Gäumann, Ernst, Naef-Roth, Stephi und Miescher, Guido, Untersuchungen über das Lycomarasmin. (Mit 4 Abb.)	257
Gäumann, Ernst, Naef-Roth, Stephi und Ettlinger, L., Zur Gewinnung von Enniatinen aus dem Myzel verschiedener Fusarien	289

Blumer, S. und Geering, J., Das Kirschbaumsterben im Baselland. (Mit 17 Abb.)	300
Pavlík, Miloš, Studies in the pH regulation by the fungous mycelium of <i>Fusarium scirpi</i> Lamb. et Fautr. (Mit 6 Abb.)	336
Stapp, C., Die Spelzenbräune des Weizens	359
Miescher, Guido, Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf <i>Solanum lycopersicum</i> L. (Mit 15 Abb.)	369

Heft 4**I. Abhandlungen**

Ballarin, Claus, Untersuchungen über <i>Helminthosporium papaveris</i> . (Mit 25 Abb.)	399
Müller-Stoll, W. R. und Hartmann, Ursula, Über den <i>Cytospora</i> -Krebs der Pappel (<i>Valsa sordida</i> Nitschke) und die Bedingungen für eine parasitäre Ausbreitung. (Mit 16 Abb.)	443
Gäumann, Ernst, Über den Einfluß der Bodentemperatur auf die Symptomausprägung bei der Blattrollkrankheit der Kartoffeln	479
Noll, A., Über anomale Kieselsäureablagerungen bei Gelbrostinfektion (<i>Puccinia glumarum</i>) des Weizens. (Mit 2 Abb.)	483
Bereks, R., Fortgeführte serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen	491

II. Kurze Mitteilungen

Bereks, R., Über die Konservierung von Kartoffel-X-Virus durch Glycerin	508
Mulder, D., Der Zinkmangel im europäischen Obstbau	510
Kastendieck, M., Rosettenkrankheit und Boden	511

III. Besprechungen 512

BAND XVI, HEFT 1

DEZEMBER 1949

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading,
Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle,
Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen,
Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. G. Gassner
Braunschweig

und

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich



Mit 65 Abbildungen

1949

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. XVI. S. 1-128, Bln. 1949

INHALT

Abhandlungen

Flensberg, Rudolf, Untersuchungen über die Warmwasserbeize unter besonderer Berücksichtigung des Warmwasserdauerbades. (Mit 26 Abb.)	1
Heß, Hans, Ein Beitrag zum Problem der induzierten Abwehrreaktionen im Pflanzenreich. (Mit 2 Abb.)	41
Dick Bercks, R., Serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen	71
Quer Gäumann, Ernst und Häfliger, Ernst, Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Entwicklung und den Schorfbefall der Kartoffelknollen. (Mit 17 Abb.)	85
Breider, Hans, Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Weinrebe „Vitis vinifera Gmelin“. (Mit 20 Abb.)	106

Kurze Mitteilungen

Daal Uschdraweit, H. A., Eine ernste Bedrohung der Teekulturen Indonesiens durch <i>Exobasidium vexans</i> Mass.	124
---	-----

Besprechungen

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen“ sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen“ erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1, und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen“ entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstr. 44—47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.

Zusendung der „Besprechungen“ unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen“ beträgt 32,— M. je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei. Honorar für die „Besprechungen“ 48,— M. je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwanglosen Heften, deren 4 zu einem Band vereinigt werden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 1,50 M. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 15,60 M.

Einzelpreis 16,20 M.

Untersuchungen über die Warmwasserbeize unter besonderer Berücksichtigung des Warmwasserdauerbades

Von

Rudolf Flensberg

I n h a l t. I. Einleitung. II. Die Wirkung des Warmwasserdauerbades auf den Weizenflugbrandbefall: 1. Beizung und Rücktrocknung des gebeizten Saatgutes; 2. Feldversuche 1947; 3. Feldversuche 1948. III. Die Wirkung des Warmwasserdauerbades auf das Keimverhalten des Weizens: 1. Durchführung und Auswertung der Triebkraftversuche; 2. Triebkraftversuche 1947; 3. Triebkraftversuche 1948. IV. Die thermotherapeutische Beurteilung des Warmwasserdauerbades: 1. Vergleich von Flugbrandbefall und Triebkraftverhalten des Weizens; 2. Die Verwendung quecksilberhaltiger Beizmittellösungen im Warmwasserdauerbad; 3. Die Unterbrechung der Beizwirkung. V. Weitere Untersuchungen über die Triebkraftschäden nach der Warmwasserbeizung: 1. Einfluß der Keimungstemperatur; 2. Einfluß der Lagerung; 3. Die Triebkraft als Maßstab der Schädigungswirkung. VI. Wasseraufnahme und Wasserabgabe während Beizung und Rücktrocknung: 1. Die Wasseraufnahme beim Warmwasserdauerbad; 2. Die Wasserabgabe bei der Rücktrocknung. VII. Die Bedeutung der Trocknung für die Keimschäden: 1. Die Trocknungsgeschwindigkeit; 2. Sofortige und spätere Trocknung; 3. Der Einfluß der Feuerungsabgase. VIII. Der Einfluß mechanischer Beschädigungen. IX. Zusammenfassung der Ergebnisse. X. Literaturverzeichnis.

I. Einleitung

Die Frage der Flugbrandbekämpfung ist bereits seit 60 Jahren, seit den ersten Vorschlägen von J e n s e n (1888), Gegenstand vielfacher Untersuchungen. Obwohl das Problem, aufbauend auf der Entdeckung der bei Weizen- und Gerstenflugbrand vorliegenden Blüteninfektion durch B r e f e l d (1905) und H e c k e (1904), nicht nur laboratoriumsmäßig, sondern durch A p p e l, G a s s n e r und R i e h m (1907—1911) auch in einer für den Züchter durchführbaren Form eine Lösung erfahren hat, finden wir auch später manche Verbesserungsversuche und Abänderungsvorschläge. Der Grund für die immer wiederkehrende Behandlung des Flugbrandproblems liegt darin, daß das vorgeschlagene Verfahren für die Praxis doch recht kompliziert ist und daß häufig mehr oder weniger große Beizschäden zu beobachten sind. G a s s n e r gibt 1933 eine Übersicht über die Entwicklung der Beizung gegen Flugbrand und verzeichnet die bis zu diesem Zeitpunkt darüber erschienenen Arbeiten. V a n d e r w a l l e und L a r o s e (1936) untersuchen noch einmal die Beizwirkung bei verschiedenen Temperaturen nach Vorquellung, ohne jedoch wesentlich Neues zu bringen.

Das bisherige Verfahren besteht in der Anwendung einer mehrstündigen Vorquellung bei Temperaturen von 25° — 30° C mit anschließender Beizung von 10 Min. Dauer bei 48° — 52° C. In dieser kurzen Beizdauer mit hohen Beiztemperaturen liegt unzweifelhaft ein Gefahrenmoment. A p p e l und G a s s n e r versuchten mittels der Durchströmungserhitzung eine möglichst

exakte Durchführung des Beizvorganges zu erreichen und damit diese Gefahrenquelle zu vermindern. Von anderer Seite wurde sehr bald der Gedanke aufgegriffen, Vorquellung und eigentliche Warmwasserbeizung zu kombinieren, also ein Warmwasserdauerbad anzuwenden. Schon 1908—1912 hat Störmer Vorschläge in dieser Hinsicht gemacht. Die 1913 von Oetken, 1914 von Spiekermann und 1921 von Hollrung gemachten Erfahrungen veranlaßten Gassner 1933 zu neuen Untersuchungen mit den Temperaturen von 35° und 40° C. Nach 24stündiger Beizung bei 35° und nach 8—10stündiger Beizung bei 40° C gelang es, den Weizenflugbrand völlig zu unterdrücken. Weck berichtet 1938 über Versuche, die in größerem Umfang an Gerste mit einem 2stündigen Dauerbad von 45° C durchgeführt wurden und vollständige Flugbrandfreiheit erbrachten. Die erhaltenen Ergebnisse waren sowohl hinsichtlich der Unterdrückung des Flugbrandes als auch bezüglich der Keimfähigkeit des Getreides sehr gut, was auch Honnecker 1941 bestätigte. Für Weizen fehlen, wenn wir von den älteren Versuchen von Störmer, Oetken, Spiekermann und Hollrung sowie den neueren Versuchen von Gassner absehen, praktische Erfahrungen über die Brauchbarkeit des Warmwasserdauerbades zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes. Die günstigen Ergebnisse von Weck lassen sich nicht ohne weiteres auf den Weizen übertragen, weil dieser, wie wir bereits aus den älteren Untersuchungen wissen, an die Warmwasserbehandlung höhere Ansprüche stellt als die Gerste. Andererseits muß hier erwähnt werden, daß der Saatzuchtleiter Vettel in Hadmersleben seit Jahren Weizenflugbrand mit Erfolg im Warmwasserdauerbad bekämpft hat. Leider sind diese Erfahrungen nicht veröffentlicht worden. Jedenfalls wurde hierdurch der Beweis erbracht, daß das Warmwasserdauerbad zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes brauchbar ist.

Um diese für die Praxis wichtige Frage weiter zu klären, sind auf Veranlassung von Prof. Gassner in den Jahren 1946—1948 im Botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig die im folgenden dargelegten Untersuchungen über die Brauchbarkeit des Warmwasserdauerbades zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes durchgeführt worden. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. G. Gassner, für die stete Förderung meiner Untersuchungen durch wertvolle Ratschläge meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

II. Die Wirkung des Warmwasserdauerbades auf den Weizenflugbrandbefall

1. Beizung und Rücktrocknung des gebeizten Saatgutes

Das zu beizende Saatgut wurde in Zinkblecheimer gefüllt, die mit einem Siebboden versehen waren. Bis zu Mengen von 1,5 kg Weizen wurden Eimer von 2,5 l Inhalt, für Mengen bis zu 2,5 kg Weizen solche von 5 l Inhalt benutzt. Eine Kontrolle der Temperaturen im Innern der Beizeimer und der diese umgebenden Badflüssigkeit ergab, daß der aus dem Bad herausragende Rand der Eimer die Wärme sehr erheblich ableitete, so daß die Temperatur im oberen Teil der Eimer um etwa 2° geringer war als im unteren Teil.

Zur Beseitigung dieses Fehlers mußten deshalb die Beizeimer völlig untergetaucht werden. Um dabei das Herausspülen des Saatgutes zu verhindern, wurden die Beizeimer mit einem Siebdeckel versehen. Bei Beginn der Beizung wurden die Beizeimer noch 2—3 mal wieder aus dem Bad herausgehoben, damit die erste, stärker abgekühlte Beizflüssigkeit wieder ablief und durch das erneute Einströmen warmer Flüssigkeit das Saatgut schnellstens auf die Beiztemperatur gebracht wurde.

Als Beiztank diente ein mit Zinkblech ausgeschlagener Holzkasten von 60 l Fassungsvermögen. In dem abnehmbaren Deckel befand sich eine Öffnung zum Einhängen der Beizeimer, sowie eine zweite kleinere Öffnung für einen Tauchsieder. Der Tauchsieder hatte eine Leistung von 1000 Watt und diente vor allem zum Anheizen des Bades. Nach Erreichen der gewünschten Temperatur wurde der allmähliche Temperaturverlust lediglich durch eine elektrische Kochplatte ausgeglichen, welche in einem Abstand unter dem Beiztank aufgestellt war. Durch ein elektrisches Rührwerk wurde die Beizflüssigkeit ständig bewegt; auf diese Weise gelang es, die Temperatur im ganzen Beiztank völlig gleich zu halten. Die Regulierung der Temperatur erfolgte manuell, gelegentliche Schwankungen betrugen nur $\pm \frac{1}{4}^{\circ}$ und wurden schnellstens durch kurzes Nachheizen mit dem Tauchsieder oder durch Ausschaltung der Kochplatte wieder ausgeglichen.

Als Beizflüssigkeit wurde aus später dargelegten Gründen nicht Wasser sondern eine 0,03 prozent. Ceresanlösung verwendet. Nach Ablauf der Beizeit und kurzem Abtropfen wurde das Getreide in dünner Schicht ausgebreitet, wobei es sofort abdampfte und durch die Verdunstungskälte so weit abkühlte, daß die Wirkung der hohen Beiztemperatur und damit der Beizung unterbunden wurde. Es wurde also von einer Abschreckung des Getreides mit kaltem Wasser Abstand genommen. Auf Einzelheiten wird in einem späteren Abschnitt noch eingegangen werden. Wenn nicht anders erwähnt, wurde das Saatgut in einem besonderen Windkanal getrocknet. Über das in dünner Schicht ausgebreitete Getreide wurde ein durch einen Ventilator erzeugter Luftstrom von etwa 4 m/Sek. Geschwindigkeit hinweggeführt, der vorher durch Heizspiralen erwärmt worden war. Die Temperatur der Trocknungsluft betrug etwa 30° — 32° C und lag damit über der Raumtemperatur.

2. Feldversuche 1947

Warmwasserdauerbad

Für die Versuche standen folgende Weizensorten und Herkünfte zur Verfügung:

Peragis Sommerweizen (Einbeck),

Peragis Sommerweizen (Mönchshof),

Super-Elite Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen I,

Super-Elite Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen II,

v. Rümkers frühere Sommerweizen Dickkopf.

Die Beizungen wurden parallel an allen 5 Sorten bzw. Herkünften in gleicher Weise durchgeführt. Gebeizt wurde im Temperaturbereich von 44° — 48° C mit Zeiten von $1\frac{1}{2}$ —4 Stunden in der folgenden Anordnung:

Tabelle 1
Übersicht über die Beizungen

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				
	1 1/2	2	2 1/2	3	4
44		+	+	+	+
45		+	+	+	+
46		+	+	+	+
47	+	+	+	+	
48	+	+	+		

Die gebeizten Proben der beiden Herkünfte Peragis Sommerweizen wurden in Einbeck bei der Saatzuchtwirtschaft Rabbethge & Giesecke ausgesät, während die Versuche mit v. Rümkers frühereifem Sommerweizen und den beiden Herkünften Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen bei der Saatzuchtwirtschaft Fr. Strube in Schöningen angesetzt wurden. Den beiden genannten Saatzuchtwirtschaften spreche ich für die Bereitstellung des befallenen Saatgutes und die Durchführung der Feldversuche hiermit meinen Dank aus.

Der Flugbrandbefall der einzelnen Sorten und Herkünfte war außerordentlich ungleich. Den weitaus stärksten Befall hatte v. Rümkers frühereifer Sommerweizen Dickkopf aufzuweisen. Wesentlich geringer, aber noch ausreichend zur Beurteilung der Beizwirkung, war der Befall auf den beiden Herkünften von Strubes rotem Schlanstedter Sommerweizen, während der Brandbesatz der beiden Peragisherkünfte so gering war, daß Rückschlüsse auf die Beizwirkung kaum möglich waren. Im folgenden beschränken wir uns darauf, die mit v. Rümkers frühereifem Sommerweizen Dickkopf erhaltenen Ergebnisse wiederzugeben. Sie stimmen mit den Befunden an Strubes rotem Schlanstedter Sommerweizen weitgehend überein, so daß die Befunde als gesichert angesehen werden können.

Die Größe der Parzellen betrug 54 m². Die Feststellung der Ergebnisse erfolgte durch Auszählung der Brandähren jeder Parzelle. Die Anzahl der gesunden Ähren wurde durch Probezählungen ermittelt.

Die Ergebnisse der Feldversuche sind in den Tabellen 2 und 3 zusammengestellt, wobei in Tabelle 3 die Anzahl der Flugbrandähren auf je 1000 Halme des Feldbestandes berechnet wurde.

Die Ergebnisse zeigen, daß es möglich ist, den Flugbrandbefall durch eine geeignete Kombination von Beiztemperatur und Einwirkungsdauer im Warmwasserdauerbad zu bekämpfen. Die Beizung bei 44 °C ist selbst nach 4 Stunden Dauer nicht völlig ausreichend gewesen. Auch bei 45 ° waren nur die Parzellen mit den Beizungen von 3 und 4 Stunden Dauer ohne Befall. Bei 46 ° und 2 1/2 Stunden Dauer trat kein Flugbrand mehr auf, während die 2 stündige Beizung noch schwachen Befall zuließ. Bei 47 ° und 48 ° genügte bereits eine 2 stündige Behandlung, um den Brand völlig zu unterdrücken. Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß die Versuche mit den schwächer befallenen Herkünften der Sorte Super-Elite Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen zu den gleichen Ergebnissen führten. Es ist verständlich, daß hier bereits vielfach auch Beizungen von kürzerer Dauer

Tabelle 2
Flugbrandbefall nach Warmwasserdauerbad
 Feldversuch 1947, Schöningen. Parzellengröße: 54 m²
 v. Rümkers frühereif Sommerweizen Dickkopf

Beiztemperatur °C	Beizdauer (Std.)	Gesunde Ähren	Brandähren
44	2	13 990	209
44	2½	13 770	163
44	3	14 150	48
44	4	15 120	3
45	2	15 010	89
45	2½	15 660	17
45	3	16 310	0
45	4	16 690	0
46	2	15 820	14
46	2½	17 330	0
46	3	17 870	0
46	4	14 150	0
47	1½	16 690	32
47	2	16 790	0
47	2½	19 980	0
47	3	15 820	0
48	1½	15 770	5
48	2	14 350	0
48	2½	16 040	0
Unbehandelt (Mittelwerte aus 3 Parzellen)		13 700	271

Tabelle 3
Anzahl der Flugbrandähren auf 1000 Halme
 Warmwasserdauerbad

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				
	1½	2	2½	3	4
44		14,79	11,72	3,38	0,20
45		5,90	1,08	0	0
46		0,89	0	0	0
47	1,92	0	0	0	
48	0,32	0	0		
Unbehandelt: 19,5					

und geringerer Temperatur zu flugbrandfreien Beständen führten. Eine Unregelmäßigkeit lag bei der Partie II obiger Sorte insoweit vor, als hier auch noch nach 2stündiger Beizung bei 48°C etwas Flugbrandbefall vorlag.

Heißwasserbeize nach Vorquellung

Um die Wirkung des Warmwasserdauerbades mit der des bisher üblichen Verfahrens — Vorquellung + Heißwasserbeize — in Vergleich zu setzen, waren die gleichen Weizensorten und -herkünfte gleichzeitig auch nach diesem Verfahren gebeizt worden und zur Aussaat gekommen. Der Weizen wurde

$\frac{1}{2}$ Stunde in Wasser bei 28°C vorgequollen, nach dem Ablaufen des Wassers weitere 3 Stunden im Thermostaten bei gleicher Temperatur belassen und nachgequollen, worauf dann die eigentliche Beizung bei 52° und 54°C mit $7\frac{1}{2}$, 10 und $12\frac{1}{2}$ Min. Dauer in einer 0,025 prozent. Ceresanlösung folgte. Nach der Beizung wurde der Weizen nicht mit Wasser abgeschreckt, sondern zur sofortigen Abkühlung in dünner Schicht ausgebreitet und, wie oben bereits beschrieben, getrocknet. Die Ergebnisse des mit v. Rümkers frühreifem Sommerweizen Dickkopf durchgeföhrten Versuches sind in der folgenden Tabelle 4 wiedergegeben.

T a b e l l e 4
Flugbrandbefall nach Heißwasserbeize mit Vorquellung

Feldversuch 1947, Schöningen. Parzellengröße 54 m^2
v. Rümkers frühreifer Sommerweizen Dickkopf

Vorquellung	Beiz-temperatur $^{\circ}\text{C}$	Beizdauer Min.	Gesunde Ähren	Brandähren
28°C , $3\frac{1}{2}$ Std.	52	$7\frac{1}{2}$	14 530	$196 = 13,3 \%$
28°C , $3\frac{1}{2}$ "	52	10	16 580	$115 = 6,9 \%$
28°C , $3\frac{1}{2}$ "	52	$12\frac{1}{2}$	14 040	$86 = 6,1 \%$
28°C , $3\frac{1}{2}$ "	54	$7\frac{1}{2}$	15 930	$42 = 2,6 \%$
28°C , $3\frac{1}{2}$ "	54	10	11 770	$9 = 0,8 \%$
28°C , $3\frac{1}{2}$ "	54	$12\frac{1}{2}$	15 170	$1 = 0,1 \%$
Unbehandelt (Mittelwert aus 3 Parzellen). . .			13 700	$271 = 19,5 \%$

Die Heißwasserbeize mit Vorquellung hat also wesentlich schlechter gewirkt als das Warmwasserdauerbad. Es war bei v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf überhaupt nicht möglich, völlig brandfreien Bestand zu erreichen. Nur Strubes Schlanstedter Sommerweizen I war nach den Beizungen bei 54°C frei von Befall. Die übrigen schwach befallenen Herkünfte bzw. Sorten zeigten trotz des schwachen Befalls immer wieder vereinzeltes Auftreten von Flugbrand bei den verschiedenen Beizstufen.

3. Feldversuche 1948 (Warmwasserdauerbad)

Die Versuche des Jahres 1947 wurden im folgenden Jahre an 3 Weizen wiederholt. Peragis Sommerweizen kam wieder in Einbeck, die beiden Herkünfte des roten Schlanstedter Sommerweizens in Schöningen zur Aussaat. Der Aufbau der Versuche war der gleiche, jedoch wurde von den Temperaturen von 44° und 48°C abgesehen. Der Flugbrandbefall war bei allen Sorten sehr gering, bei Peragis Sommerweizen so vereinzelt, daß eine Auswertung der Versuche mit dieser Sorte unmöglich war.

Die Feldversuche 1948 bestätigen im allgemeinen die Ergebnisse der vorjährigen Versuche (Tabelle 5). Auch nach diesen Versuchen kommt eine $2\frac{1}{2}$ stündige Beizung bei 46° als geeignete Bekämpfungsmethode in Frage.

Tabelle 5
Flugbrandbefall nach Warmwasserdauerbad

Feldversuch 1948, Schöningen. Brandähren je Parzelle

Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen I Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen II

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden			
	2	2 ¹ / ₄	2 ¹ / ₂	3		2	2 ¹ / ₄	2 ¹ / ₂	3
45	24	15	5	4	45	19	20	0	4
46	1	0	0	0	46	9	7	2	1
47	1	3	0		47	3	0	1	
Unbehandelt: 64					Unbehandelt: 106				

III. Die Wirkung des Warmwasserdauerbades auf das Keimverhalten des Weizens

1. Durchführung und Auswertung der Triebkraftversuche

Abgesehen von den ersten Triebkraftbestimmungen des Jahres 1947, die auf Sand mit einer 2 cm hohen Schicht ausgeglühten Kieses angesetzt wurden, kamen sämtliche Triebkraftversuche in Gartenerde zur Durchführung. Dabei wurde das ausgesäte Saatgut mit einer 2 cm hohen Schicht der gleichen Erde bedeckt. Die Aufstellung der für die Versuche benutzten Anzuchtkästen erfolgte im Gewächshaus. Da die Gewächshaustemperatur sich nicht konstant halten ließ, mußten sämtliche Versuche der gleichen Versuchsreihe am gleichen Tage angesetzt werden, um untereinander vergleichbar zu sein. Die unter ungleichen Temperaturbedingungen zur Prüfung gelangten Versuchsreihen mit den verschiedenen Sorten lassen sich nicht unmittelbar vergleichen; wohl aber ist auch hier nach Umrechnung auf Wertungszahlen ein direkter Vergleich möglich.

Zur Ablesung der Triebkraftversuche wurde nach dem Erscheinen der ersten Koleoptilen 3–4 Tage nacheinander täglich — später in größeren Zeitabständen — die Zahl der aufgelaufenen Pflanzen festgestellt, bis keine Keimungen mehr auftraten. Da zur richtigen Bewertung des Triebkraftverhaltens der Endwert, also die sogenannte Triebkraft nicht ausreichend ist, wurde nach Gassner (1923) die mittlere Triebgeschwindigkeit und aus dieser und der Triebkraft die „Wertungszahl“ ermittelt. Die Triebgeschwindigkeit ist der Quotient aus der Summe aller Produkte von Tageszahl und jeweiliger Zahl der aufgelaufenen Pflanzen einerseits und der im ganzen erreichten Triebkraft andererseits. Zur Berechnung der Wertungszahl wird der Quotient $\frac{\text{Triebkraft}}{\text{m. Triebgeschw.}}$ auf den gleich 100 gesetzten entsprechenden Quotienten der unbehandelten Kontrollen bezogen.

2. Triebkraftversuche 1947

Warmwasserdauerbad

Die in den Feldversuchen des Jahres 1947 auf Flugbrand geprüften Weizenproben wurden zur gleichen Zeit in Triebkraftversuchen auf die Schädigungswirkung der Beizung untersucht. Da die Hauptergebnisse der Flugbrandversuche mit v. Rümkers frühreifem Sommerweizen Dickkopf er-

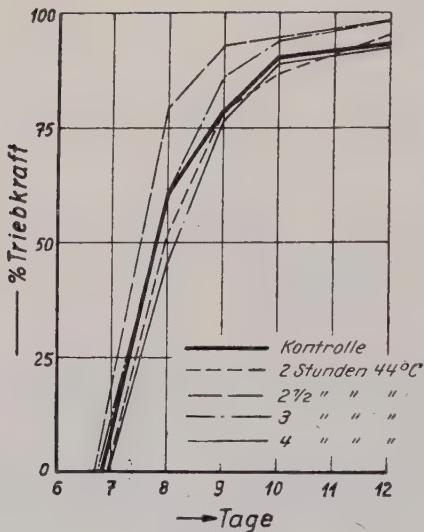


Abb. 1)

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947.
Warmwasserdauerbad 44°C .
v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

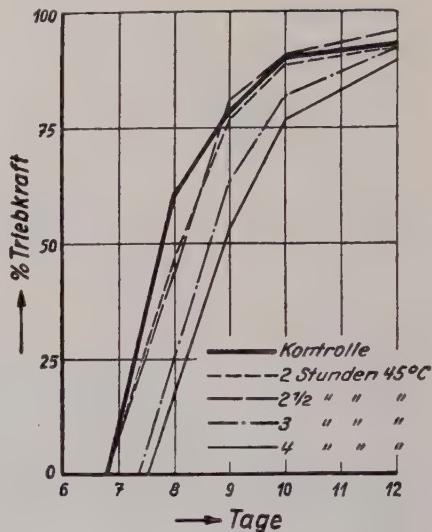


Abb. 2

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947.
Warmwasserdauerbad 45°C .
v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

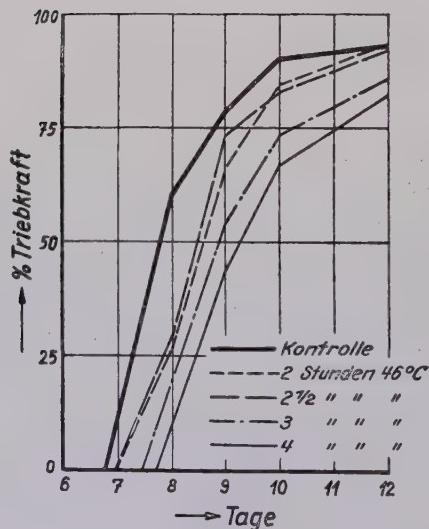


Abb. 3

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947.
Warmwasserdauerbad 46°C .
v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

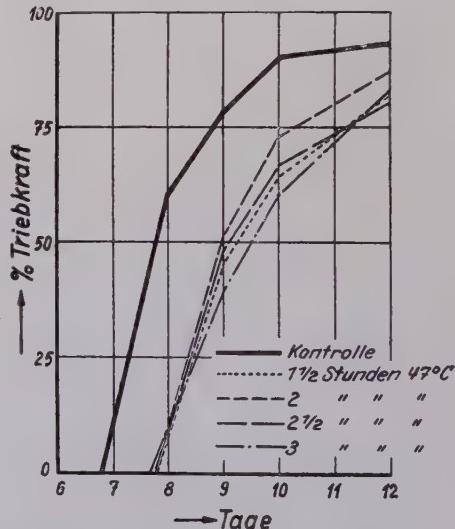


Abb. 4

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947.
Warmwasserdauerbad 47°C .
v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

¹⁾ Der Schnittpunkt der einzelnen Kurven mit der Abszisse, d. h. der Augenblick des ersten Erscheinenes von Koleoptilen, wurde, da dieser bei den Versuchen nicht zahlenmäßig erfaßt werden konnte, entsprechend dem Stand des Auflaufens bei der ersten Ablesung festgelegt.

mittelt wurden, ist in den folgenden Abbildungen das Triebkraftverhalten dieses Weizens zur Darstellung gekommen (Abb. 1—5). Die anderen Weizen erbrachten ähnliche Befunde.

Nach einem Warmwasserdauerbad bei 44°C weisen die Triebkraftkurven keine wesentlichen Verschiebungen gegenüber der unbehandelten Kontrolle auf (Abb. 1). Wenn zum Teil ein schnelleres Auflaufen der gebeizten Körner im Vergleich zur Kontrolle vorliegt, so erklärt sich dies dadurch, daß als Beizflüssigkeit Ceresanlösungen verwendet wurden, während die Kontrollen gänzlich unbehobelt blieben. Wir werden später auf diese Erscheinung noch näher eingehen. Bei 45° (Abb. 2) machen sich mit zunehmender Beizdauer leichte Verzögerungen im Auflaufen bemerkbar, auch werden bei der längsten Beizdauer innerhalb von 12 Tagen keine vollen Triebkraftprozente mehr erreicht. Bei 46° und 47° (Abb. 3 u. 4) wird die eben geschilderte Wirkung noch deutlicher; 48° (Abb. 5) zeigt weitere Verzögerung im Auflaufen und beträchtliche Herabsetzung der Triebkraftprozente. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 6 nochmals zahlenmäßig wiedergegeben. Der Teil a der Tabelle enthält die erreichten Triebkraftzahlen, der Teil b die durchschnittliche Triebgeschwindigkeit in Tagen und der Teil c die aus beiden sich ergebenden Wertungszahlen. Wir sehen, daß eine Beiztemperatur von 44° bis zu 4 stündiger Dauer harmlos ist, bei 45° macht sich bei 4 stündiger Dauer bereits ein Absinken der Wertungszahlen auf 87 bemerkbar, bei 46° liegt schon nach einer Beizung von 3 Stunden Dauer ein Absinken der Wertungszahl auf 84 vor, während eine $1\frac{1}{2}$ —2 stündige Behandlung bei 47° und 48°C bereits Werte unter 80 zur Folge hat.

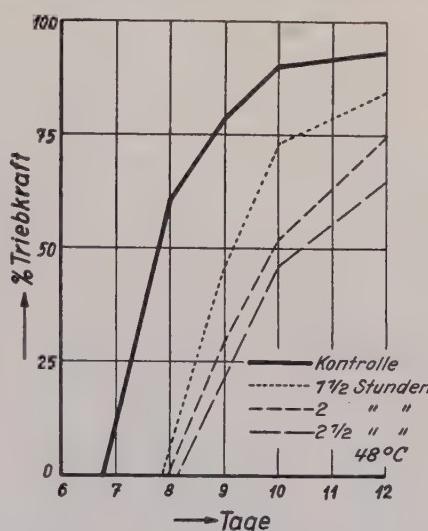


Abb. 5

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947.

Warmwasserdauerbad 48°C .
v. Rümkers Sommerweizen DickkopfTabelle 6
Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947

Warmwasserdauerbad. v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

a) Triebkraft (in Prozent) b) mittlere Triebgeschwindigkeit (in Tagen)

Beiztemperatur $^{\circ}\text{C}$	Beizdauer in Stunden					Beiztemperatur $^{\circ}\text{C}$	Beizdauer in Stunden				
	$1\frac{1}{2}$	2	$2\frac{1}{2}$	3	4		$1\frac{1}{2}$	2	$2\frac{1}{2}$	3	4
44	95,0	98,5	98,5	92,5		44		6,97	6,50	6,77	6,95
45	92,5	96,0	92,0	89,5		45		6,89	6,95	7,35	7,50
46	93,5	92,0	85,5	82,0		46		7,31	7,20	7,45	7,66
47	82,5	87,0	80,5	83,0		47		7,73	7,60	7,61	7,83
48	84,5	75,0	65,0			48		7,66	7,96	8,06	
Kontrolle: 93,0						Kontrolle: 6,77					

c) Wertungszahlen

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				
	1½	2	2½	3	4
44		99,0	110,2	106,0	97,0
45		97,8	100,8	91,3	87,0
46		93,5	93,5	84,0	78,2
47	78,2	82,5	77,0	77,5	
48	80,4	68,6	58,9		
Kontrolle: 100					

Heißwasserbeize nach Vorquellung

Parallel zu den im Jahre 1947 vergleichsweise durchgeföhrten Feldversuchen über die Heißwasserbeize nach Vorquellung wurden ebenfalls Triebkraftbestimmungen vorgenommen, die in den Abb. 6 und 7 graphisch und in der Tabelle 7 zahlenmäßig zur Darstellung gekommen sind. Vergleichen wir diese Zahlen mit den Zahlen des Warmwasserdauerbades, so ergibt sich, daß

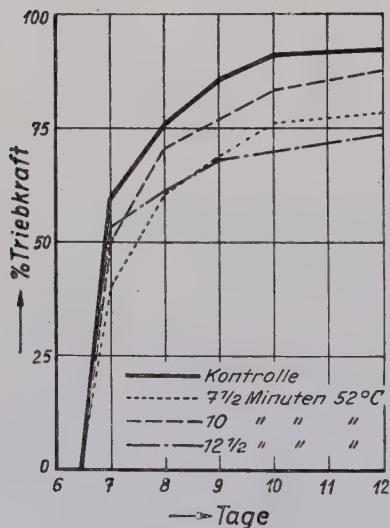


Abb. 6

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947.
Heißwasserbeize 52° nach Vorquellung
3½ Std., 28° C. v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

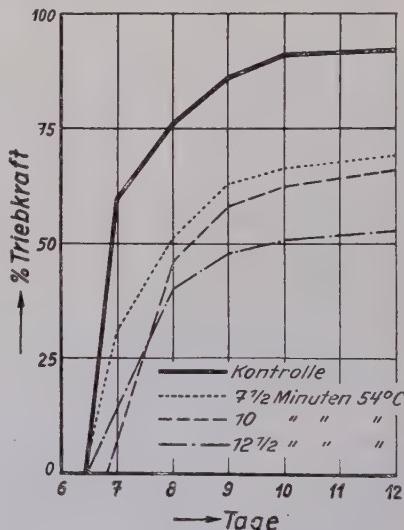


Abb. 7

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947.
Heißwasserbeize 54° C nach Vorquellung
3½ Std. 28° C. v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

die Heißwasserbeize nach Vorquellung in unseren Versuchen eine größere Gefährlichkeit für das Keimverhalten des Weizens aufweist als das Warmwasserdauerbad. Schon bei der in den Feldversuchen als unwirksam erwiesenen Behandlung — 3½ Stunden Vorquellung und 7½—12½ Minuten Heißwasserbeize bei 52°C — liegen wesentliche Herabsetzungen der Triebkraftprozente und der mittleren Triebgeschwindigkeit und damit auch der Wertungszahl vor. Bei 54° werden in der Wertungszahl nur noch außerordentlich

tiefe Werte erreicht. Was das Triebkraftverhalten anbetrifft, ist also das Warmwasserdauerbad der bisherigen Methode deutlich überlegen.

Tabelle 7
Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947
Heißwasserbeize mit Vorquellung. v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

a) Triebkraft (in Prozent) b) Mittlere Triebgeschwindigkeit (in Tagen)

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Minuten			Beiztemperatur °C	Beizdauer in Minuten		
	7½	10	12½		7½	10	12½
52	78,5	87,5	73,5	52	7,15	7,05	6,82
54	69,5	66,5	53,0	54	7,30	7,85	7,46
Kontrolle: 92,0						Kontrolle: 6,8	

c) Wertungszahlen

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Minuten		
	7½	10	12½
52	80,4	91,5	79,2
54	70,0	62,2	52,0
Kontrolle: 100,0			

3. Triebkraftversuche 1948

Wie bei den Versuchen des Jahres 1947 wurde auch 1948 parallel zu den Feldversuchen die Schädigung des Kernes durch die Beizung in Triebkraftversuchen ermittelt. Während 1947 die Kontrollen gänzlich unbehandelt blieben, wurden sie 1948 bei Zimmertemperatur 10 Minuten in eine 0,03 prozent. Ceresanlösung getaucht. Dies hat, wie auch noch im folgenden Abschnitt näher dargelegt werden soll, eine Erhöhung von Triebkraft und Triebgeschwindigkeit zur Folge. Da sich aber die Beurteilung von Schädigungen durch die Beizung auf den Vergleich mit der Kontrolle stützt, muß diese Vorbehandlung der Kontrollen bei der Bewertung der Triebkraftversuche 1948 in Rechnung gestellt werden. Von den 3 Sorten bzw. Herkünften, mit denen diese Versuche angestellt wurden, ist im folgenden die Sorte Peragis Sommerweizen ausgewählt, die sich in unseren Versuchen als besonders beizempfindlich herausstellte. Grundsätzlich bestätigten die Befunde an den beiden Herkünften des roten Schlanstedter Sommerweizens die Ergebnisse der vorjährigen Untersuchungen. Peragis Sommerweizen dagegen reagierte stärker auf die Behandlung und wies bereits nach Beizung bei 45°

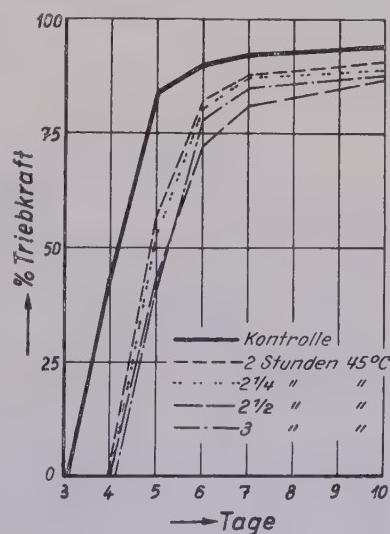


Abb. 8
Triebkraftversuch zum Feldversuch 1948.
Warmwasserdauerbad 45° C.
Peragis Sommerweizen

wesentliche Herabsetzungen von Triebkraft, Triebgeschwindigkeit und damit auch der Wertungszahl auf. Die Ergebnisse sind in den Abb. 8—10 graphisch wiedergegeben; die zahlenmäßige Auswertung ist in Tabelle 8 erfolgt.

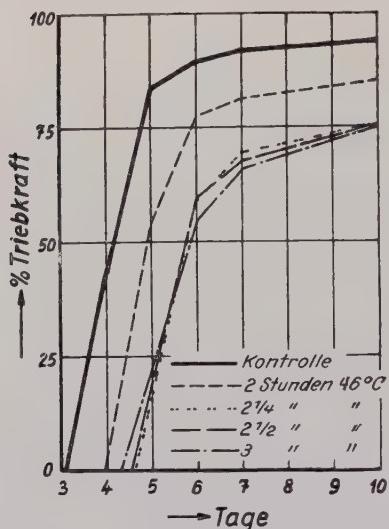


Abb. 9

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1948.
Warmwasserdauerbad 46° C.
Peragis Sommerweizen

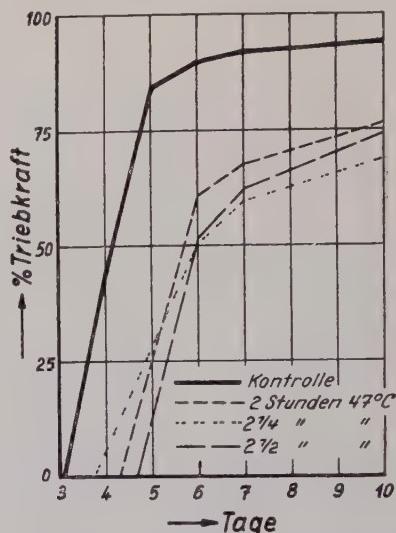


Abb. 10

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1948.
Warmwasserdauerbad 47° C.
Peragis Sommerweizen

Tabelle 8

Triebkraftversuch 1948

Warmwasserdauerbad. Peragis Sommerweizen

a) Triebkraft
(in Prozent)b) Mittlere Triebgeschwindigkeit
(in Tagen)

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden			
	2	2 1/4	2 1/2	3		2	2 1/4	2 1/2	3
45	90,6	89,0	86,3	87,6	45	5,55	5,58	5,89	5,78
46	86,3	75,6	75,6	75,3	46	5,67	6,30	6,40	6,43
47	76,6	68,6	74,0		47	6,30	6,38	6,72	
Kontrolle: 93,7					Kontrolle: 4,72				

c) Wertungszahlen

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden			
	2	2 1/4	2 1/2	3
45	82,5	80,3	74,0	76,2
46	76,8	60,6	59,5	59,0
47	61,5	54,2	55,5	
Kontrolle: 100,0				

IV. Die therapeutische Beurteilung des Warmwasserdauerbades

1. Vergleich von Flugbrandbefall und Triebkraftverhalten des Weizens

In gleicher Weise wie bei der chemotherapeutischen Beurteilung von Beizmitteln müssen wir zur Ausarbeitung eines geeigneten Warmwasserbeizverfahrens die Wirkung der Behandlung auf den Pilz einerseits mit der Schädigungswirkung auf das Saatgut andererseits in Vergleich setzen. So ergibt sich aus dem bisher Dargelegten, vornehmlich unter Heranziehung der Versuche des Jahres 1947 mit v. Rümkers Sommerweizen, daß die Beiztemperatur von 44°C selbst bei 4stündiger Beizdauer keine ausreichende Wirkung auf den Pilz hat. Bei 45° liegt die zeitliche Grenze nach unseren Versuchen etwa bei 3 Stunden. Dies steht im Einklang mit Pichler (1943), der bei 45° nach 2 Stunden Beizdauer noch Flugbrandbefall verzeichnen muß, während dagegen Schuk (1947) auch nach $3\frac{1}{2}$ Stunden noch Unsicherheit der Beizwirkung konstatiert. Bei 46° liegt die Grenze etwa bei $2\frac{1}{2}$ Stunden, während sie bei 47° bei 2 Stunden und bei 48° etwas unterhalb 2 Stunden zu suchen ist. Da 44°C wegen unzureichender Wirksamkeit ausscheidet, muß nunmehr im Bereich von $45-48^{\circ}$ die Frage der geeigneten Temperaturbehandlung unter Berücksichtigung des Triebkraftverhaltens entschieden werden. Die Temperaturen 47° und 48° bringen bereits nach den kurzen Beizzeiten von $1\frac{1}{2}$ und 2 Stunden starke Triebkraftschäden mit sich, weswegen auch diese Beiztemperaturen abzulehnen sind. Somit bleiben als brauchbare Behandlungstemperaturen und -zeiten 45° 3 Stunden und 46° $2\frac{1}{2}$ Stunden. Durch diese Behandlungen war der Flugbrand bei dem besonders anfälligen v. Rümkers Sommerdickkopf restlos beseitigt, während gleichzeitig die Triebkraftschäden in erträglichen Grenzen blieben. Beide Kombinationen von Temperatur und Zeit sind also brauchbar. Da aber die Abkürzung der Beizdauer aus praktischen Gründen ratsam ist, muß das Warmwasserdauerbad von $2\frac{1}{2}$ Stunden Dauer bei 46° als besonders geeignet angesehen werden.

2. Die Verwendung quecksilberhaltiger Beizmittellösungen im Warmwasserdauerbad

Über den günstigen Einfluß eines Zusatzes von 0,1% Ceresan zur Heißwasserbehandlung bei Gerste berichtet Poulsen (1934). Einerseits wurden dadurch neben der Unterdrückung des Flugbrandes infolge der Wärmebehandlung gleichzeitig auch andere parasitäre Erkrankungen — Hartbrand und Streifenkrankheit — vermieden, andererseits zeigte sich, daß das Ceresan die durch die Beizung entstandenen Beizschäden weitgehend auszugleichen vermag. Diese bedeutungsvolle Beobachtung wurde sowohl im Feldversuch als auch im Laboratoriumsversuch gemacht. Nachdem durch Weck (1938) und Korhammer (1939) nach mehrjährigen Versuchen diese günstige Keimbbeeinflussung durch Hg-haltige Beizmittel bestätigt worden war, untersuchte auch Honecker (1942) Beizungen mit und ohne Zusatz von Beizmitteln. Besonders im Triebkraftversuch in Sand war die günstige Wirkung des bei diesen Versuchen verwendeten Ceresans unverkennbar. Auf Grund dieser Erfahrungen fügten wir unseren Beizlösungen ebenfalls Ceresan hinzu.

Da das Weizenkorn im Gegensatz zur Gerste unbespelzt ist, wählten wir die Konzentration geringer. Fast durchweg wurden alle Beizungen mit 0,03% Ceresan, einige auch, so z.B. für den Feldversuch 1947, mit 0,025% durchgeführt. Ein nachträglich nach den Feldversuchen 1947 angestellter Vergleich von verschiedenen Konzentrationen ergab, daß die Dosierung von 0,025% und 0,03% sehr günstig gewählt war.

Tabelle 9
Triebkraftbeeinflussung durch Ceresanzusatz zum Warmwasserdauerbad
Hochzucht Strubes Dickkopf II. Warmwasserdauerbad 47°C 2½ Stunden

	Ceresankonzentration in %				
	0	0,015	0,03	0,045	0,06
Triebkraft %	75,9	89,3	91,3	87,1	85,9
Mittlere Triebgeschwindigkeit (Tage)	7,20	7,00	7,52	7,81	8,55
Wertungszahl	62,2	75,8	71,5	66,2	59,2

Das Optimum liegt also zwischen 0,015% und 0,03%. Gegenüber der Warmwasserbeize mit reinem Wasser besteht eine deutliche Erhöhung von Triebkraft und Wertungszahl. Die höheren Konzentrationen bringen schon wieder Schädigungen mit sich, die sich besonders in der Verzögerung der Keimung bemerkbar machen, während die Triebkraft noch hoch bleibt.

Nicht nur nach einer Warmwasserbeizung, sondern auch bei sonst unbehandeltem Getreide konnte eine Verbesserung der Keimung nach einer schwachen Behandlung mit Ceresan festgestellt werden.

Tabelle 10
Triebkraftbeeinflussung durch schwache Ceresanbeizung
Hochzucht Strubes Dickkopf II

	völlig unbehandelt	0,03% Ceresan, 10 Min., 20°C
Triebkraft %	88,0	91,3
Mittlere Triebgeschw. (Tage)	5,20	4,70
Wertungszahl	100,0	115,0

Aus diesem Grunde wurden, wie schon erwähnt, für die Feldversuche 1948 alle Vergleichsaussaaten (Kontrollen) mit einer 0,03 prozent. Ceresanolösung 10 Min. bei 20°C gebeizt.

3. Die Unterbrechung der Beizwirkung

In der Praxis ist es üblich, die Temperatureinwirkung auf das Saatgut durch Eintauchen in kaltes Wasser oder durch Nachströmenlassen kalten Wassers im Appel-Gassnerischen Beizapparat zu unterbrechen. In unseren in den vorhergehenden Abschnitten wiedergegebenen Versuchen ist von der Unterbrechung der Temperatureinwirkung durch Abschrecken des Saatgutes mit kaltem Wasser Abstand genommen worden. In seinen Versuchen des Jahres 1933 hatte Gassner ebenfalls bereits diese Abschreckung unterlassen. Die Abschreckung mittels kalten Wassers stellt zwar ein sicheres Mittel zur sofortigen Unterbrechung der Temperaturwirkung dar, jedoch wird auch durch einfaches Ausbreiten des Getreides nach der Beizung eine genügend rasche Temperatursenkung bis in ungefährliche Bereiche erreicht, wie die

folgenden Versuche bestätigen. Im Anschluß an Heißwasserbeizungen von 5 Minuten Dauer bei 54°C , denen die übliche $3\frac{1}{2}$ -stündige Vorquellung bei 28°C vorangegangen war, wurden die Temperaturverhältnisse beim Ausbreiten gemessen. Vor dem Ausbreiten ließen wir das Wasser eine halbe Minute lang aus dem Beizeimer ablaufen und abtropfen. In Tabelle 11 sind die Mittelwerte aus 6 in solcher Weise angelegten Meßreihen wiedergegeben.

Tabelle 11
Temperaturabfall beim Ausbreiten des Getreides
(Mittelwerte aus 6 Meßreihen)
Heißwasserbeize 54°C mit Vorquellung

	Dauer der Ausbreitung in Sekunden									
	0	20	40	60	120	180	240	300	360	
Temperatur . .	50,8°	49,2°	46,4°	40,8°	39,5°	38,5°	35,4°	34,0°	29,0°	

Bei Beginn der Ausbreitung war die Temperatur auf $50,8^{\circ}\text{C}$ abgesunken; sie fällt weiterhin, wie aus obigen Zahlen ersichtlich ist, so rasch, daß keinerlei schädliche Temperaturnachwirkungen zu befürchten sind. Diese im Anschluß an die Heißwasserbeize gewonnenen Ergebnisse berechtigen ohne weiteres zu dem Schluß, daß beim Warmwasserdauerbad, das an sich schon keine so strengen Anforderungen an die Innehaltung der Beizzeiten stellt, die Abschreckung des Saatgutes vollends überflüssig ist. Es wäre bei einer Beizdauer von $2\frac{1}{2}$ Stunden ohnehin belanglos, ob diese Zeit durch eine Temperatureinwirkung von 1—2 Minuten Dauer verlängert wird. Tatsächlich ist dies aber nach obigen Messungen nicht der Fall. Durch das einfache Ausbreiten wird genügend schnell ein Absinken der Temperatur in ungefährliche Bereiche bewirkt, so daß wir in allen unseren Versuchen von der Abschreckung mit kaltem Wasser Abstand nehmen konnten.

Um jeden Zweifel auszuschließen, wurde jedoch noch eine Anzahl Versuchsreihen durchgeführt, in denen nach der Beizung ein Teil des Getreides abgeschreckt wurde, ein anderer durch Ausbreitung abgekühlt wurde. Die mit diesen Proben durchgeföhrten Triebkraftversuche ließen keinerlei schädliche Beeinflussung des Triebkraftverhaltens bei Unterlassung der Abschreckung erkennen.

Beiztechnisch bedeutet der Fortfall des Abschreckens eine wesentliche Vereinfachung, zumal das abgeschreckte, nasse Getreide sich ungleich schwerer zurücktrocknen läßt, während bei dem Ausbreiten in dünner Schicht das anhaftende Wasser sofort weitgehend verdunstet, so daß die in dem ausgebreiteten Getreide steckende Wärme zu einer gewissen Vortrocknung des Getreides nutzbar gemacht wird.

V. Weitere Untersuchungen über die Triebkraftschäden nach der Warmwasserbeizung

1. Einfluß der Keimungstemperatur

Bei der Untersuchung der Beizwirkung auf die Keimfähigkeit des Saatgutes ist mehrfach festgestellt worden, daß die Auswirkung von Schädigungen durch die bei der Keimprüfung herrschende Temperatur beeinflußt wird. So

wurde für die Beizung mit Formaldehyd durch Molz und Müller (1925) festgestellt, daß die Schädigung besonders bei tiefen Temperaturen hervortritt. Gassner (1926) bringt diese Erscheinung mit der Neigung des Formaldehyds zur Polymerisation bei tiefen Temperaturen in Zusammenhang. Für quecksilberhaltige Mittel tritt eine Steigerung der Schäden bei hohen Keimtemperaturen auf, wie Gassner (1926) und Schütz (1931) nachwiesen.

Für die Warm- oder Heißwasserbeizung ist noch nicht festgestellt, ob bei verschiedenen Keimungstemperaturen eine unterschiedliche Auswirkung der Beizung zu erkennen ist. Kirchhoff glaubte dies nach seinen 1931 gewonnenen Ergebnissen verneinen zu müssen. Die Ergebnisse einiger eigener Versuche sind in der folgenden Tabelle 12 zusammengestellt. Die Prüfung der Beizwirkung wurde bei Temperaturen von $+1^{\circ}$, 15° und 25°C vorgenommen. Für die extrem tiefe Temperatur von $+1^{\circ}$ stand ein Kühlraum, für die hohe Temperatur von 25°C ein Klimaraum und für die Temperatur von 15° ein Gewächshaus zur Verfügung. In allen Fällen wurde der Versuch so lange durchgeführt, bis weitere Keimungen nicht mehr zu erwarten waren. Bei den außerordentlichen Unterschieden der Triebgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Temperatur kann der Vergleich nur an Hand der Triebkraft- und Wertungszahlen durchgeführt werden.

Tabelle 12
Triebkraftverhalten gebeizten Weizens bei verschiedenen Keimtemperaturen
Warmwasserdauerbad

	1°C			15°C			25°C		
	Triebkraft (%)	mittlere Triebgeschw. (Wochen)	Wertungszahl	Triebkraft (%)	mittlere Triebgeschw. (Tage)	Wertungszahl	Triebkraft (%)	mittlere Triebgeschw. (Tage)	Wertungszahl
a) Hochzucht Strubes Dickkopf II									
Unbehandelt . . .	78,5	9,25	100,0	89,8	7,13	100,0	92,5	4,56	100,0
$47^{\circ}, 2\frac{1}{2}$ Std. . . .	64,2	12,43	60,8	80,3	8,30	76,7	76,5	6,16	61,3
$48^{\circ}, 2\frac{1}{2}$ Std. . . .	55,0	13,05	49,6	77,5	8,80	70,0	68,5	6,33	53,3
b) Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen									
Unbehandelt . . .	78,1	9,85	100,0	92,0	7,08	100,0	92,3	4,50	100,0
$47^{\circ}, 2\frac{1}{2}$ Std. . . .	19,8	13,05	19,2	60,3	8,25	56,5	63,5	7,06	43,9

Auf Grund der erhaltenen Ergebnisse müssen wir mit einer gewissen Beeinflussung der Triebkraftwerte durch die Keimungstemperatur rechnen. Die günstigsten Triebkraftwerte und Wertungszahlen haben wir bei Temperaturen von 15° . Sowohl bei 1° wie aber auch bei 25° liegen weniger hohe Triebkraftwerte und Wertungszahlen für das gebeizte Saatgut vor, so daß hier die schädigende Beizwirkung stärker hervortritt als bei einer Temperatur von 15° .

2. Einfluß der Lagerung

Wenn auch im allgemeinen das gebeizte Saatgut wenige Wochen oder Monate nach der Behandlung zur Aussaat gelangt, so hat die Frage, ob gebeiztes Getreide nach längerer Lagerung ein abweichendes Verhalten zeigt, ein gewisses Interesse. Um den Einfluß der Lagerung festzustellen, wurden mit v. Rümkers

Sommerweizen Dickkopf, der im Winter 1946/47 gebeizt war, im Frühjahr 1948, also nach mehr als einjähriger Lagerung, erneut Triebkraftversuche durchgeführt. Die Ergebnisse sind in den folgenden Abb. 11 und 12 sowie in der Tabelle 13 zusammengestellt. Sie sind in Vergleich zu setzen mit den Abb. 3 und 4 und den in Tabelle 6 wiedergegebenen Ergebnissen des Frühjahrs 1947.

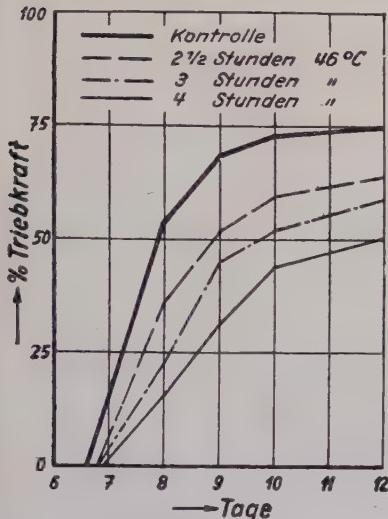


Abb. 11

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947,
1 Jahr später. Warmwasserdauer-
bad 46° C. v. Rümkers Sommerweizen
Dickkopf

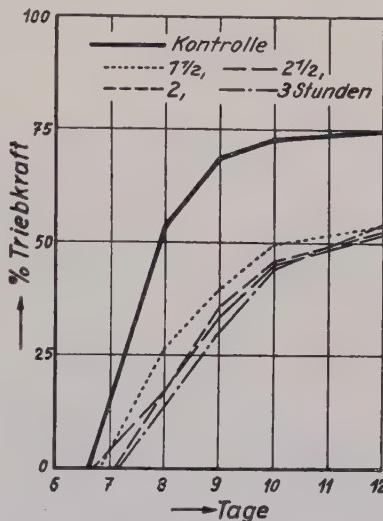


Abb. 12

Triebkraftversuch zum Feldversuch 1947,
1 Jahr später. Warmwasserdauer-
bad 47° C. v. Rümkers Sommerweizen
Dickkopf

Tabelle 13
Triebkraftversuch nach mehr als einjähriger Lagerung des gebeizten
v. Rümkers Sommerweizen Dickkopf

a) Triebkraft (in Prozent)

b) Triebgeschwindigkeit (in Tagen)

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden					Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				
	1½	2	2½	3	4		1½	2	2½	3	4
44			73,6	70,3	66,6	44			8,75	8,75	9,32
45		75,3	69,0	60,5	54,6	45			8,52	8,6	9,1
46			67,0	61,6	56,3	46			8,93	9,38	9,8
47	56,6	57,2	55,0	60,6		47	9,1	9,0	9,5	10,0	
48	48,6	39,0	48,0			48	9,8	11,0	12,1		
Kontrolle: 75,8						Kontrolle: 8,3					

c) Wertungszahlen

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				
	1½	2	2½	3	4
44			93,0	87,4	78,5
45		97,0	88,0	73,2	67,0
46			82,3	72,3	63,1
47	68,4	69,7	63,5	66,6	
48	53,3	39,0	43,4		
Kontrolle: 100					

Wir finden allgemein, und zwar auch für die Kontrolle, ein starkes Absinken der Triebkraftwerte, was sich zum Teil wohl dadurch erklärt, daß das Getreide in den heißen Sommermonaten des Jahres 1947 in dem zur Aufbewahrung benutzten Raum lange Zeit verhältnismäßig hohen Temperaturen ausgesetzt war. Die unbehandelte Kontrolle zeigt mit einer Triebkraft von 75,8% gegenüber 93% ein wesentliches Absinken. Ein Vergleich der mittleren Triebgeschwindigkeit ist nicht direkt möglich, weil die Temperaturen bei den Versuchen des Frühjahrs 1947 und 1948 nicht genau gleich gehalten werden konnten.

Wichtig aber ist die Feststellung, daß sich die Unterschiede zwischen gebeizt und unbehandelt in den Versuchen des Jahres 1948 vertieft haben. Es geht dies auch deutlich aus dem Vergleich der Kurven in den Abb. 11 und 12 mit denen der Abb. 3 und 4 hervor. Ein Vergleich der Wertungszahlen (Tabelle 13 und Tabelle 6) zeigt ebenfalls ein starkes Absinken. Das gebeizte Saatgut läßt also in seiner Triebkraft eher nach als ungebeiztes.

3. Die Triebkraft als Maßstab der Schädigungswirkung

In den vorstehenden Untersuchungen ist ausnahmslos das Triebkraftverhalten als alleiniger Maßstab für die durch die Beizung erfolgte Schädigung des Kornes herangezogen worden. Von Keimprüfungen auf Sand oder Fließpapier wurde abgesehen, nachdem vergleichende Versuche ergeben hatten, daß hier Werte erreicht werden, die wesentlich zu hoch liegen und ein falsches Bild der wirklichen, d. h. bei der Aussaat auf dem Feld auftretenden Schäden ergeben. Fuchs und Beiler (1944) haben in ihren Untersuchungen über die Heißwasserempfindlichkeit der Karyopsen des Weizens die auf Filtrerpapier durchgeföhrten Keimprüfungen mit den Ergebnissen der von Lakkon (1942) vorgeschlagenen Methode des topographischen Nachweises der Keimfähigkeit mittels des 2,3,5-Triphenyl-tetrazoliumchlorids in Vergleich gesetzt. Dabei versuchten sie die Heißwasserschäden ausschließlich auf Grund der Tetrazolium-Methode zu beurteilen. Da die genannten Autoren die Tetrazolium-Methode mit der Fließpapier-Methode in Vergleich brachten, letztere aber nach unseren Erfahrungen zu hohe Werte liefert, mußten wir annehmen, daß auch die Tetrazolium-Methode kein richtiges Bild der tatsächlich in Erscheinung tretenden Schäden nach Heißwasserbeizung zu geben vermag.

Bei Beizungen, die in großem Umfange in Düsseldorf¹⁾ während des Winters 1946/47 durchgeföhr wurden, war die Prüfung der Keimschäden ebenfalls nach der Tetrazolium-Methode erfolgt. Diese Prüfung hatte verhältnismäßig gute Keimwerte ergeben, während das Auflaufen auf dem Feld geradezu katastrophal ausfiel. Auch diese Befunde deuten darauf hin, daß diese Methode bei der Feststellung von Heißwasserschäden versagt. Jedenfalls ergab sich die Notwendigkeit, den Wert der Tetrazolium-Methode, die sich in der Praxis der Samenkontrolle bei normalem Saatgut bestens bewährt hat, im Zusammenhang mit der Heißwasserbeizung nochmals zu überprüfen.

¹⁾ Nach einem Bericht des Pflanzenschutzamtes Bonn.

Herr Professor L a k o n war so freundlich, den Verfasser persönlich in seine Arbeitsmethodik einzuführen. An dieser Stelle sei ihm für seine freundlichen Bemühungen herzlich gedankt.

Die Keimprüfung besteht bekanntlich darin, daß herauspräparierte Embryonen in eine 1prozent. Lösung des Tetrazoliumsalzes eingelegt und nach Ablauf einer bestimmten Zeit nach Umfang und Lokalisation gefärbter und ungefärbter Partien aussortiert werden. Lebende Gewebe werden durch Formazan, welches durch Reduktion des Tetrazoliums gebildet wird, lebhaft rot gefärbt, während abgestorbene Gewebe farblos bleiben.

Nach dieser Methode wurden nun die von uns im Winter 1946/47 im Warmwasserdauerbad und in der Heißwasserbeize nach Vorquellung gebeizten und in Triebkraftprüfungen kontrollierten Proben untersucht. Die hierbei gewonnenen Werte, die nach L a k o n als Keimpotenz bezeichnet werden, sind in der Tabelle 14 zusammengestellt. Diese Tabelle ist, soweit es den v. Rümkers Sommerweizen betrifft, mit den Tabellen 6 und 7 zu vergleichen; für die Sorte roter Schlanstedter Sommerweizen wurden die Triebkraftwerte in Klammern der Tabelle 14 zugefügt.

T a b e l l e 14
Keimpotenzbestimmungen zu den Feldversuchen 1947
(Tetrazolium-Methode nach L a k o n)

Vergleich der Triebkraftwerte siehe Tabelle 6 und 7, sowie () in 1b dieser Tabelle

1. W a r m w a s s e r d a u e r b a d

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Stunden				
	1½	2	2½	3	4
a) v. Rümkers frühereifer Sommerweizen Dickkopf					
44		99	99	99	99
45		100	99	96	94
46		95	97	97	99
47	94	96	94	94	
48	95	91	93		
Kontrolle: 100					
b) Super-Elite Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen					
45			96 (94,5)	99 (93,5)	
46			99 (94,5)	98 (91,0)	
47		100 (88,5)	96 (90,0)		
48	99 (91,5)	97 (86,0)			
Kontrolle: 100 (95,5)					

() = Triebkraft

2. H e i ß w a s s e r b e i z e m i t V o r q u e l l u n g
v. Rümkers frühereifer Sommerweizen Dickkopf

Beiztemperatur °C	Beizdauer in Minuten		
	7½	10	12½
52	100	98	97
54	99	97	97
Kontrolle: 100			

Wir sehen, daß die Keimpotenzwerte auch bei starkem Absinken der Triebkraft in annähernd gleicher Höhe erhalten bleiben. So stehen beispielsweise bei v. Rümkers Sommerweizen nach Beizung von $1\frac{1}{2}$, 2 und $2\frac{1}{2}$ Stunden bei 48°C Keimpotenzwerte von 95, 91 und 93% Triebkraftwerten von 84,5, 75 und 65% gegenüber. Bei der Heißwasserbeize nach Vorquellung ergaben die Triebkraftprüfungen für die Beiztemperatur 54° 69,5, 66,5, 53,0%, während die Keimpotenz noch 99, 97, 97% betrug. Irgendeine Korrelation läßt sich also nicht feststellen.

Um den Unterschied zwischen Triebkraft und Keimpotenz ganz klar herauszustellen, wurden die bei einer anderen Weizensorte — Hochzucht Strubes Dickkopf II — nach 1–6 stündiger Beizung im Warmwasserdauerbad gefundenen Werte für Triebkraft und Keimpotenz in Abb. 13 zusammen dargestellt. Nach Beizung von 5 Stunden Dauer war die Triebkraft annähernd, nach 6 Stunden völlig erloschen, während die Keimpotenz noch 71 bzw. 61% betrug.

Diese Ergebnisse zeigen in Übereinstimmung mit den in der Praxis gewonnenen Erfahrungen, daß die Tetrazolium-Methode für die Beurteilung der Schäden nach Heißwasserbehandlung nicht anwendbar ist. Es wird, wie besonders die Bonner Erfahrungen verdeutlichen, eine Keimfähigkeit vorgetäuscht, die praktisch nicht mehr vorhanden ist. Andererseits ist die Feststellung von gewisser Bedeutung, daß Weizen, der im Warmwasserdauerbad stark gebeizt worden ist, zwar nicht mehr aufläuft, aber noch durchaus lebensfähige Embryonen hat, deren latente Keimfähigkeit sich aber nur unter optimalen Laboratoriumsbedingungen realisieren läßt, wie der durch Fuchs und Beiler angestellte Vergleich der Keimpotenz mit den nach der Filtrierpapier-Methode gewonnenen Keimwerten zeigt.

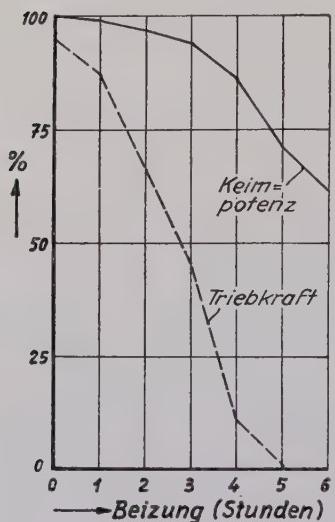


Abb. 13

Keimpotenz und Triebkraft nach Warmwasserdauerbad 48°C . Hochzucht Strubes Dickkopf II
Beiler angestellte Vergleich der Keimpotenz mit den nach der Filtrierpapier-Methode gewonnenen Keimwerten zeigt.

VI. Wasseraufnahme und Wasserabgabe während der Beizung und Rücktrocknung

1. Die Wasseraufnahme beim Warmwasserdauerbad

Zwischen dem Wassergehalt im Korn und der Beizwirkung liegen unzweifelhaft Beziehungen vor. Appel und Riehm (1911) haben ebenso wie Störmer (1911) bereits auf die Bedeutung des Wassergehaltes hingewiesen. Gassner und Kirchhoff (1934 II) (1936) wiesen durch Einzelbestimmung des Wassergehalts in verschiedenen Kornteilen nach, daß die Beizwirkung vor allem von dem Wassergehalt der dem Endosperm benachbart gelegenen Embryoteile abhängig ist. Besonders wichtig ist die Feststellung,

dass der Wassergehalt im Embryo 65—70% des Trockengewichts betragen muß, wenn eine Unterdrückung des Flugbrands erreicht werden soll.

Über die Wasserbilanz während des Warmwasserdauerbades liegen bislang noch keine Untersuchungen vor, in denen das Verhalten von Embryo und Nährgewebe getrennt geprüft wurde. Wir führten nun eine solche Untersuchung durch, indem wir während einer Beizung zu den vorgesehenen Ablesezeiten jeweils 50 Korn entnahmen, diese durchrasches Betupfen mit einem Tuch vom äußerlich anhaftenden Wasser befreiten und mit einem Skalpell teilten. Dabei wurde der erste Schnitt direkt hinter dem Embryo, der andere in gleicher Entfernung vom Apikalende geführt. Die einzelnen Körnerteile wurden in Wägegläschchen gesammelt, gewogen und bis zur Gewichtskonstanz bei 110°C getrocknet. Die angegebenen Wassergehaltswerte beziehen sich auf das Trockengewicht; hierauf muß besonders hingewiesen werden, da es sonst in der landwirtschaftlichen Praxis üblich ist, den Wassergehalt auf das Gesamtgewicht zu beziehen. Die Ergebnisse je einer solchen bei 47° und vergleichsweise auch bei 20°C durchgeführten Meßreihe sind in den Abb. 14 und 15 wiedergegeben.

Abb. 14
Wasseraufnahme bei 20°C

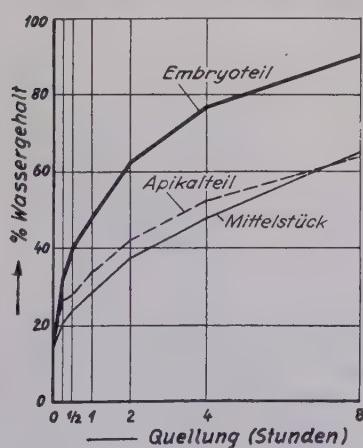
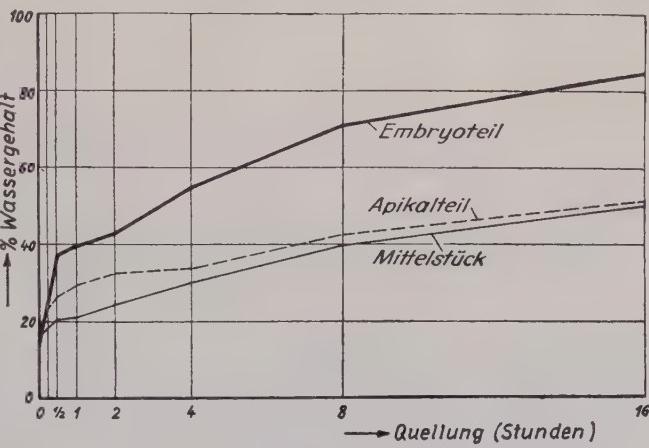


Abb. 15
Wasseraufnahme bei 47°C

Tatsache ist von Eberhard (1906), Brown (1907), Schroeder (1911), Collins (1918), sowie von Filter (1914) u. a. m. eingehend behandelt worden. Unzweifelhaft ist das Embryoende der bevorzugte Eintrittsort für das Wasser; in welchem Umfange die gesamte selektiv-permeable Hülle des Weizenkorns in gequollenem Zustande dem Wasser Durchgang gewährt, was nach

In Übereinstimmung mit Gassner und Kirchhoff (a. a. O.) und früheren Autoren erkennt man die Abhängigkeit der Wasseraufnahme von der Temperatur; die Wasseraufnahme verläuft bei 47° wesentlich schneller als bei 20°C. Zwischen Embryoteil und den beiden Endospermteilen liegen beträchtliche Unterschiede in der Menge des aufgenommenen Wassers vor. Diese seit langem bekannte

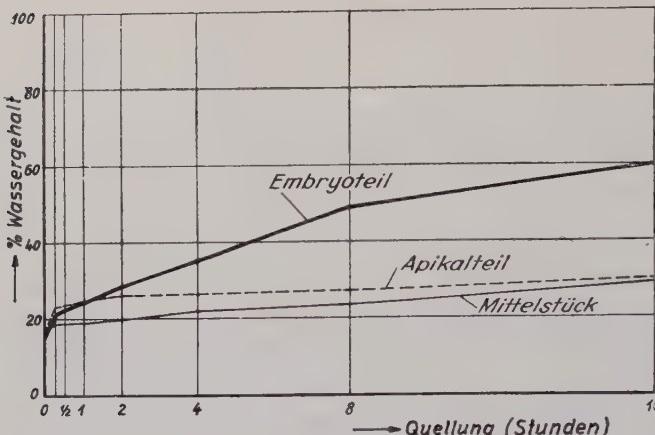


Abb. 16
Wasseraufnahme bei 0°C

oberflächlich festhält und durch Quellung bindet, so daß ein vermehrter Wassereintritt ins Korn vorgetäuscht wird. Dies ließ sich leicht nachweisen, indem nach Entfernung des Haarschopfes die Wasseraufnahme gemessen wurde.

Zu diesem Zweck wurde nach kurzem Einweichen der Haarschopf samt der Längszellenschicht der Fruchtwand vom Korn abgezogen. Nach kurzem Rücktrocknen der dabei vielleicht schon weiter aufgenommenen, geringfügigen Wassermenge wurde wie bei obigen Versuchen verfahren. Zur besonderen Verlangsamung des Vorganges wählten wir 0°C als Badtemperatur. Erwartungsgemäß bleibt nun das Apikalende deutlich hinter dem Mittelstück in seiner Wasseraufnahme zurück, was aus den Abb. 16 und 17 ersichtlich ist.

Praktisch vollzieht sich also der Anstieg des Wassergehalts im Mittelstück und im apikalen Stück des Kornes nahezu gleich, er ist wesentlich geringer als im Embryo. Für diesen haben Gassner und Kirchhoff (a.a.O.) einen Gehalt von 65 bis 70 % gefordert, wenn eine Warmwasserbehandlung gegen den Flugbrand wirksam sein soll. Nach unseren Messungen wird im Dauerbad dieser Wassergehalt bei 47°C etwa nach $2\frac{1}{2}$ Stunden

Schröder (a.a.O.) und Gurewitsch (1929) ebenfalls anzunehmen ist, kann hier nicht entschieden werden.

In den Abb. 14 und 15 fällt auf, daß das Apikalende in der

Wasseraufnahme höher liegt als das Mittelstück des Korns. Diese Erscheinung beruht darauf, daß der Haarschopf vermöge seiner größeren Oberfläche eine beträchtliche Menge Wasser

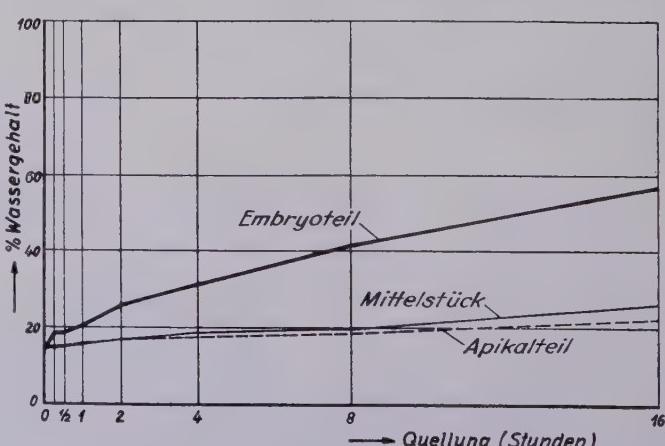


Abb. 17
Wasseraufnahme bei 0°C nach Entfernung der Längszellenschicht mit Haarschopf

erreicht (siehe Abb. 15). Die Tatsache, daß nach unseren Feldversuchen eine Beizung bei 46° erst bei 2½ stündiger Dauer wirksam ist, stellt eine Bestätigung der früheren Befunde dar. Es erscheint daher auch nicht möglich, beim Warmwasserdauerbad Behandlungszeiten unterhalb 2½ Stunden anzuwenden, ohne daß die Sicherheit des therapeutischen Erfolges gefährdet wird.

Im Zusammenhang mit vorstehenden Untersuchungen über die Wasseraufnahme bei der Beizung sei hier auf eine uns allerdings nur im Referat zugängliche neuere Veröffentlichung von Schuk (1947) kurz eingegangen. Nach Versuchen, die in Rußland in den Jahren 1939 und 1940 durchgeführt wurden, sollen mit einem Warmwasserdauerbad von 3½ Stunden bei 45° unter Zusatz von 0,5% Soda mehr oder weniger brandfreie Saaten erzielt worden sein. Über den Zweck und die Wirkung des Sodazusatzes heißt es dann in dem Referat: „Die in 0,5prozent. Sodalösung gequollenen Samen trocknen viel schneller, da die Wasseraufnahme des Samens durch Alkalien gemindert wird.“

An sich würde eine Wirkung von Salzlösungen auf die Wasseraufnahme in dem angegebenen Sinne denkbar sein. Eine Wirkung auf der Basis des osmotischen Wertes, wie sie Schroeder (1911) bei der Quellung in 1/5 molarer Sodalösung feststellte, ist in diesem Falle kaum zu vermuten, da die Konzentration (bei Schroeder etwa 2,1%) hier wesentlich geringer ist. Bezüglich der Alkaliwirkung finden sich in der Literatur die verschiedensten Meinungen. Während beispielsweise Plate (1913) bei Natriumhydroxyd je nach Konzentration teils quellungshemmenden, teils fördernden Einfluß verzeichnet, wirkt nach Rudolfs (1925) bei Kaliumkarbonat die Alkalität der durch osmotische Kräfte bewirkten Depression der Wasseraufnahme entgegen, also aufnahmefördernd.

Bezüglich der Wirksamkeit des empfohlenen Sodazusatzes, die sich beim Warmwasserdauerbad durch die höhere Temperatur möglicherweise anders gestaltet als bei den üblichen Quellungsversuchen bei Zimmertemperatur, stellen wir eigene Messungen über die Wasseraufnahme an.

In Tabelle 15 ist die Wasseraufnahme bei der Beizung in 0,5prozent. Sodalösung für ganze Körner, in Tabelle 16 für die einzelnen Kornteile, derjenigen in reinem Wasser gegenübergestellt.

Tabelle 15

Wasseraufnahme aus Sodalösung und aus reinem Wasser

Hochzucht Strubes Dickkopf II. Konzentration der Sodalösung: 0,5%. Temperatur: 45° C

	Beizdauer in Stunden						
	0	1/4	1/2	1	2	4	18
Wasser	17,4	31,3	34,8	40,8	47,5	59,3	86,6
Sodalösung	17,4	32,4	36,4	42,9	50,5	60,7	88,2

Die geringen Differenzen liegen im Bereich der Fehlergrenzen. Die Werte bei der Sodalösung neigen eher etwas nach oben, was wohl auf stärkere Quellung der außerhalb der Samenschale liegenden Partien beruhen mag. Die Werte für die Kornspitzen in Tabelle 16 deuten darauf hin.

Tabelle 16

Wasseraufnahme aus Sodalösung und aus reinem Wasser

Hochzucht Strubes Dickkopf II Konzentration der Sodalösung: 0,5% Temperatur: 45°C

		Beizdauer in Stunden					
		0	1/4	1/2	1	2	4
Wasser	Embryoteil	15,8	35,7	43,7	56,5	67,1	86,0
	Mitte	17,1	23,8	26,6	31,6	38,5	50,0
	Spitze	16,4	31,3	32,7	38,8	43,6	53,3
Sodalösung	Embryoteil	15,8	34,0	42,0	55,3	70,0	84,0
	Mitte	17,1	24,4	24,7	31,7	39,0	51,1
	Spitze	16,4	32,0	37,4	39,4	47,5	58,5

Auch der Trocknungsverlauf nach einer Beizung in 0,5prozent. Sodalösung, den wir ebenfalls untersuchten, ergab keinen Unterschied von dem nach der Wasserbeizung. Die Ergebnisse unserer Versuche bestätigen also die Angaben von Schuk in keiner Weise.

2. Die Wasserabgabe bei der Rücktrocknung

Es ist seit langem bekannt, daß die Trocknung für die Frage der Beizschäden von hoher Bedeutung ist. So führen besonders Schaumburg (1924) und Bonne (1941) die nach Heißwasserbehandlung auftretenden Schäden zu einem großen Teil auf den Einfluß der Trocknung zurück. Eine nochmalige Bearbeitung des ganzen Fragenkomplexes erschien uns aus mehrfachen Gründen als notwendig. Um über die Wasserverschiebung im gebeizten Korn Klarheit zu gewinnen, wurde gebeiztes Saatgut nach 4 Methoden getrocknet und der Wassergehalt der einzelnen Teile des Korns in den verschiedenen Phasen der Rücktrocknung durch Messung festgehalten. Zur Anwendung kamen folgende Trocknungsarten:

1. Trocknung im Warmluftstrom, 32°C, 4 m/Sek. Geschw. (vgl. S. 3).
2. Trocknung im Thermostaten bei ruhender Luft 40°C,
3. Trocknung in Zimmerluft (Ausbreitung auf der Tischplatte) etwa 20°C,
4. Trocknung im Klimaraum bei etwa 80% rel. Luftfeuchtigkeit 21°C,

Die Kräfte, die bei den einzelnen Trocknungsarten auf das Korn einwirken, setzen sich aus mehreren Komponenten zusammen. Relative Luftfeuchtigkeit, Windgeschwindigkeit bzw. Luftpirkulation und Temperatur sind die maßgeblichen Faktoren, aus denen die Verdunstungsdauer resultiert. Zur Messung dieser Verdunstungskraft bedienten wir uns des Piche-Evaporimeters, wie es Walter (1928) bei seinen Verdunstungskraftmessungen benutzte. Die in Tabelle 17 dargestellten Werte sind Mittelwerte aus den Messungen während der Durchführung der in den Abb. 18—21 dargestellten Trocknungsversuche.

Tabelle 17

Die Verdunstungskraft der Trocknungsanordnungen

Wasserabgabe des Piche-Evaporimeters je Stunde

Warmluftstrom	1,55 ccm (=100,0)	Zimmerluft	0,14 ccm (=9,0)
Thermostat	0,40 ccm (= 26,0)	Klimaraum	0,04 ccm (= 2,6)

Getrocknet wurde Getreide, das bei 47°C $2\frac{1}{2}$ Stunden gebeizt war. Der Verlauf der Wasserabgabe bei den 4 verschiedenen Trocknungsmethoden ist in den Abb. 18—21 getrennt für Embryoteil und Endosperm dargestellt. Von einer Unterteilung des Endosperms in die beiden Teile Kornmitte und Spalte wurde hierbei abgesehen, da nach unseren Versuchen hier praktisch keine wesentlichen Unterschiede des Wassergehaltes vorliegen.

Der Embryo hatte bei Beginn der Trocknung etwa einen Wassergehalt von 80% , das Endosperm einen solchen von etwa 50% , lag also etwa um 30% unter dem des Embryos. Das Absinken des Wassergehalts vollzieht sich nun je nach der Trocknungsgeschwindigkeit verschiedenschnell, jedoch nahezu in gleicher Form. Zunächst fällt der Wassergehalt des Embryos stärker als der des Endosperms. Etwa bei einem Wassergehalt von 30% des Trocken gewichts, was einem solchen von 23% des Gesamt gewichts entspricht, überschneiden sich die Kurven. Von nun ab liegt der Wassergehalt des Embryos unter dem des Endosperms.

Setzt man die Geschwindigkeit der Wasserabgabe aus dem Evaporimeter und die aus dem Getreide bei der langsamsten Trocknungsart je gleich 1, so stehen die Verdunstungskräfte der 4 untersuchten Trocknungsarten im Verhältnis $1:3.5:10:39$, während die Wasserabgabe aus dem Korn nur im Verhältnis $1:4:5.3:16$ ansteigt. Die Wasserabgabe geht also mit der physi-

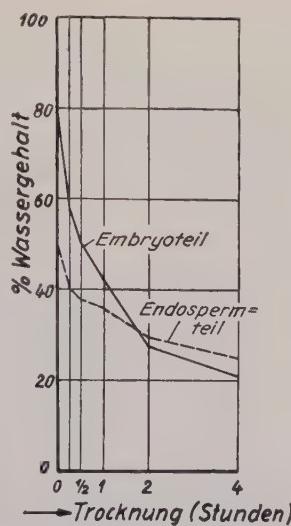


Abb. 18

Trocknung im Warmluftstrom.
Temperatur: 32°C .
Windgeschwindigk.: 4 m/Sek.

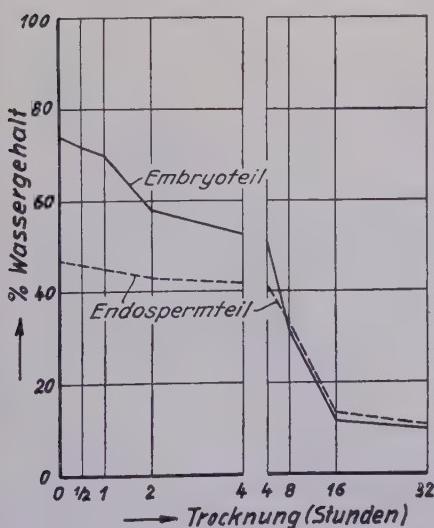


Abb. 19

Trocknung im Thermostaten bei 40°C .

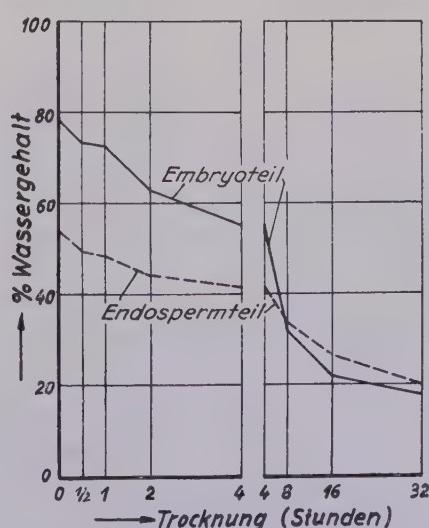


Abb. 20

Trocknung in Zimmerluft 20°C

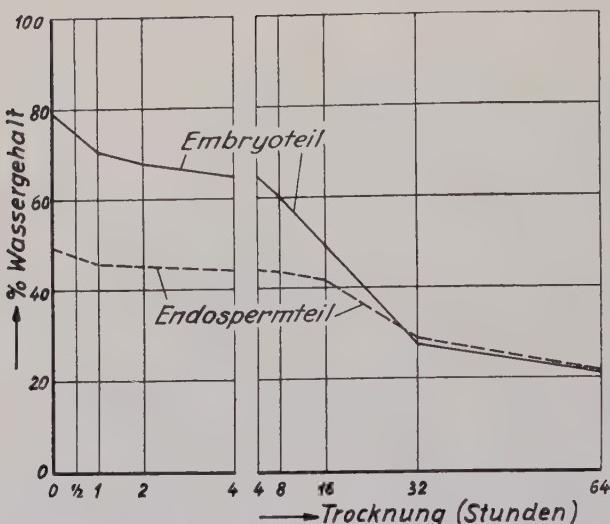


Abb. 21

Trocknung im Klimaraum. Rel. Luftfeuchtigkeit etwa 80%. Temperatur 21° C

Vorgänge in Abb. 22 nochmals gegenübergestellt. Um die Auswirkung der Beizung auf das Keimverhalten des gebeizten Getreides zu verfolgen, wurden in den folgenden Versuchen wiederum die gleichen 4 Trocknungsarten angewandt, wie bei den soeben beschriebenen Wassergehaltsbestimmungen (vgl. S. 24). Die Beizungen im Warmwasserbad wurden stets so gehalten, daß eine schwache Überdosierung gewählt wurde und somit eine gewisse Triebkraftschädigung mit Sicherheit vorlag.

VII. Die Bedeutung der Trocknung für die Keimschäden

1. Die Trocknungsgeschwindigkeit

Um die Auswirkung verschiedener schneller Rücktrocknung auf das Keimverhalten des gebeizten Getreides zu verfolgen, wurden in den folgenden Versuchen wiederum die gleichen 4 Trocknungsarten angewandt, wie bei den soeben beschriebenen Wassergehaltsbestimmungen (vgl. S. 24). Die Beizungen im Warmwasserbad wurden stets so gehalten, daß eine schwache Überdosierung gewählt wurde und somit eine gewisse Triebkraftschädigung mit Sicherheit vorlag.

Aus dem in der Tabelle 18 wiedergegebenen

kalischen Verdunstungsgröße nicht parallel. Daraus ergibt sich der Schluß, daß die Wasser-verschiebungen im Korn sich nicht schnell genug abspielen, um die volle Verdunstungskraft des Warmluftstroms auszunutzen zu können. Es ist verständlich, daß die kapillaren Verschiebungen sich mit einer gewissen Trägheit vollziehen.

Um die Wasser-aufnahme während der Beizung und die Wasser-abgabe bei der Trocknung unmittelbar vergleichen zu können, wurden beide

Die Kurve der Wasser-aufnahme während der Beizung und die der Wasserabgabe verläuft beim Embryo wesentlich steiler als beim Endosperm. Ein besonderer Unterschied liegt vor zwischen dem ersten Anstieg bei der Beizung und dem letzten Abfallen bei der Trocknung. Der erste Anstieg verläuft besonders steil, während die letzte Wasserabgabe bis zur Erreichung des ursprünglichen Korngewichts außerordentlich langsam verläuft.

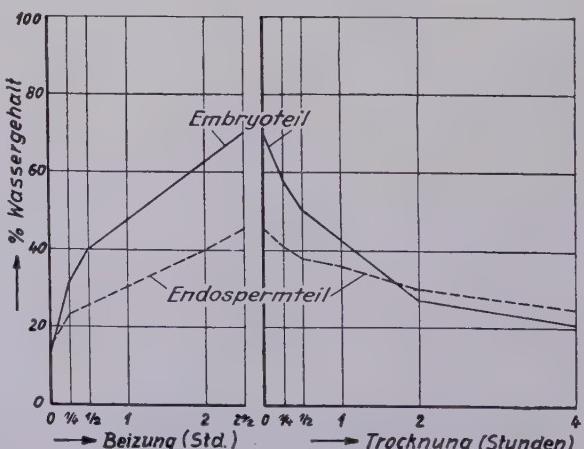


Abb. 22

Wasserbewegung beim ganzen Beizprozeß. Warmwasser-dauerbad 47° C, Trocknung im Warmlufttrockner

Beispiel erkennt man, daß nach der schnellen Trocknung im Warmluftstrom die Triebkraft den geringsten Wert hat, während gleichzeitig die Triebgeschwindigkeit verhältnismäßig stark verzögert ist. Mit abnehmender Trocknungsgeschwindigkeit bei den anderen Trocknungsarten steigt die Triebkraft und hebt sich die Triebgeschwindigkeit. Dies zeigt sich besonders in den aus beiden Werten resultierenden Wertungszahlen.

Tabelle 18
Keimung nach Trocknung mit verschiedenen Geschwindigkeiten
Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen

Beizung	Trocknung	Triebkraft (%)	mittl. Triebgeschw. (Tage)	Wertungszahl
47°C, 2½ Std.	Warmluftstrom (100,0)	58,0	5,45	49,5
47°C, 2½ Std.	Thermostat (26,0)	63,5	4,65	64,0
47°C, 2½ Std.	Zimmerluft (9,0)	71,5	4,77	70,0
47°C, 2½ Std.	Klimaraum (2,6)	76,5	3,81	93,5
Unbehandelt		92,5	4,30	100,0

Nach diesen Ergebnissen wird also das Ausmaß der Triebkraftschädigung durch die Trocknungsgeschwindigkeit beeinflußt.

Bezüglich der Triebgeschwindigkeit kann man annehmen, daß bei langsamer Rücktrocknung ein geringes Ankeimen erfolgt, dagegen besagt der Anstieg der Triebkraftprozente mit Verlangsamung der Trocknung, daß auch noch andere Wirkungen vorliegen müssen.

Der eben dargelegte Zusammenhang zwischen Triebkraftverhalten und Trocknungsgeschwindigkeit ist aber nur bei warmwassergebeiztem Getreide zu beobachten. Trocknet man dagegen ungebeiztes Getreide, nachdem es nur durch Quellung bei Zimmertemperatur auf den gleichen Wassergehalt gebracht worden ist, wie er nach Beizung erreicht wird, in der gleichen Weise, so zeigen sich, wie aus Tabelle 19 ersichtlich, keine Schädigungen.

Tabelle 19
Keimung von gequollenem, ungebeiztem Weizen nach verschiedener Rücktrocknung
Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen

Vorbehandlung	Trocknungsart	Triebkraft (%)	mittl. Triebgeschw. (Tage)	Wertungszahl
12 Std., 20°C	Warmluftstrom (100,0)	79,0	4,02	110,5
12 Std., 20°C	Thermostat (26,0)	86,0	4,03	120,0
12 Std., 20°C	Zimmerluft (9,0)	77,5	4,15	105,5
12 Std., 20°C	Klimaraum (2,6)	92,5	3,54	147,0
Unbehandelt		73,5	4,15	100,0

Alle Werte, selbst nach der schnellsten Trocknung im Warmluftstrom, liegen oberhalb der Werte des unbehandelten Weizens.

Aus diesem Versuch ist ersichtlich, daß die schnelle Trocknung an sich keine Schädigung hervorruft. Der nach der Trocknung im Klimaraum gefundene hohe Wert hängt unzweifelhaft mit der außerordentlich langsam Trocknung und der damit verbundenen langen Lagerung in nassem Zustande

zusammen. Durch diese Feststellungen werden die Anschaubungen von Schamburg (1924) und Bonne (1941) widerlegt, welche annahmen, daß bei scharfer Trocknung Schädigungen des Korns infolge innerer Zerrungen und Zerreißungen stattfänden.

2. Sofortige und spätere Trocknung

Nach den Ergebnissen der im vorigen Abschnitt dargestellten Versuche bedeutet sofortige scharfe Trocknung im Warmluftstrom bei warmwasserbeiztem Getreide eine Verschlechterung der Triebkraft und der Triebgeschwindigkeit gegenüber der langsamen Trocknung. Diese Feststellungen gaben Anlaß zu weiteren Versuchen, in denen stets eine scharfe Trocknung im Warmluftstrom zur Anwendung kam, wobei aber diese Trocknung teils sofort, teils erst nach mehr oder minder langer Feuchtlagerung nach der Beizung durchgeführt wurde. Das Getreide wurde also nach der Beizung in üblicher Weise durch kurze Ausbreitung abgekühlt, dann zu einem Teil sofort getrocknet, während der übrige Teil in beiznassen Zustande in geschlossenen Gefäßen bis zu einer späteren Trocknung gelagert wurde.

Tabelle 20
Einfluß einer 24 stündigen Verschiebung der Trocknung
Hochzucht Strubes Dickkopf II

Beizung	Trocknung	Triebkraft (%)	mittlere Triebgeschwindigkeit (Tage)	Wertungs- zahl
47°C , $2\frac{1}{2}$ Std. (ohne Ceresan)	sofort	78,3	7,30	63,2
	nach 24 Std.	88,6	5,96	88,0
47°C , $2\frac{1}{2}$ Std. (0,03 % Ceresan)	sofort	88,3	8,60	61,0
	nach 24 Std.	94,6	6,40	87,5
Unbehandelt		90,0	5,31	100,0

Das in Tabelle 20 wiedergegebene Ergebnis dieser Versuche zeigt einen überraschend starken Anstieg der Triebkraftprozente neben erheblicher Förderung der Triebgeschwindigkeit. In zahlreichen weiteren Versuchen wurde dieser Befund bestätigt.

Bei dem in der folgenden Tabelle 21 zahlenmäßig und in den Abb. 23—25 graphisch dargestellten Versuch wurde der Einfluß einer solchen Feuchtlagerung zwischen Beizung und Trocknung einerseits bei warmwasserbeiztem Getreide, andererseits bei nur gequollenem Getreide einander gegenübergestellt. Das gequollene Getreide war durch Einquellung bei Zimmertemperatur auf den gleichen Wassergehalt gebracht worden, der nach den Beizungen erreicht wird.

Wiederum bestätigt sich nach Warmwasserbeizung der günstige Einfluß der Feuchtlagerung. Besonders nach der stärkeren Beizung bei 47°C werden die Triebkraftprozente und die Triebgeschwindigkeit wesentlich verbessert. Die Abb. 23 und 24 zeigen, daß der Verlauf der Triebkraftprüfung nach Feuchtlagerung stark von dem nach sofortiger Trocknung im Sinne einer Verbesserung abweicht.

Tabelle 21

Der unterschiedliche Einfluß der Feuchtlagerung auf gebeizten und auf ungebeizten, gequollenen Weizen

Hochzucht Strubes Dickkopf II. Trocknung im Warmluftstrom. 4 Stunden

Vorbehandlung	Feuchtlagerung (Std.)	Triebkraft (%)	mittl. Triebgeschw. (Tage)	Wertungs- zahl
Beizung 46°C, 2½ Std.	0	81,6	6,98	67,2
	12	83,6	6,20	
	24	85,3	5,75	
	48	89,3	5,50	
Beizung 47°C, 2½ Std.	0	66,6	7,02	54,5
	12	81,3	6,07	
	24	83,3	5,83	
	48	83,3	5,35	
Quellung 20°C, 10 Std.	0	90,6	5,02	103,5
	24	90,0	5,81	
	48	67,6	6,23	
Unbehandelt		90,6	5,18	100,0

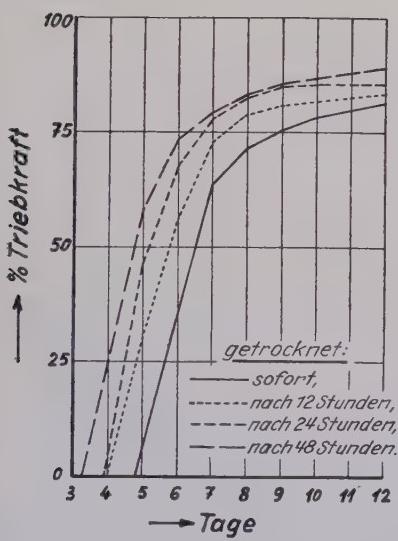


Abb. 23

Abhängigkeit der Triebkraft vom Zeitpunkt der Trocknung. Warmwasserdauerbad 46°C, 2 1/2 Stunden

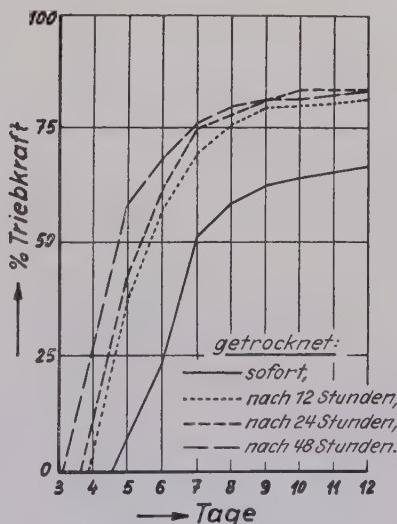


Abb. 24

Abhängigkeit der Triebkraft vom Zeitpunkt der Trocknung. Warmwasserdauerbad 47°C, 2 1/2 Stunden

Es ist nun sehr eigenartig, daß nach einfacher Einquellung bei Zimmer-temperatur die gleiche Maßnahme ein völlig anderes Verhalten zur Folge hat. Hier resultiert nach einer 24- bzw. 48 stündigen Feuchtlagerung im ersten Fall zwar ein noch mäßiges, im zweiten jedoch ein starkes Absinken der Triebkraft verbunden mit Verzögerung der Geschwindigkeit. Abb. 25 ver-deutlicht nochmals dieses unterschiedliche Verhalten.

Bei der grundsätzlichen Bedeutung dieser Feststellungen wurde dieser Versuch mehrfach variiert. In Tabelle 22 folgt ein weiterer Versuch, bei dem eine engere Staffelung der Lagerzeiten zwischen Beizung und Trocknung vorgenommen wurde.

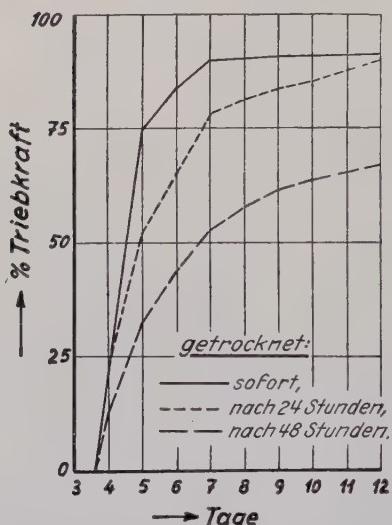


Abb. 25

Abhängigkeit der Triebkraft vom Zeitpunkt der Trocknung. Quellung 20° C, 10 Stunden

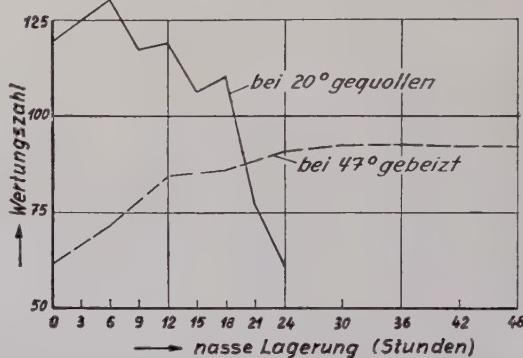


Abb. 26

Wertungszahl nach beiznasser Lagerung verschiedener Dauer

Tabelle 22

Der unterschiedliche Einfluß der Feuchtlagerung auf gebeizten und auf ungebeizten, gequollenen Weizen

Hochzucht Strubes Dickkopf II. Trocknung im Warmluftstrom, 4 Stunden

Vorbehandlung	Feuchtlagerung (Std.)	Triebkraft (%)	mittl. Triebgeschw. (Tage)	Wertungs- zahl
Beizung 47° C, 2½ Std.	0	85,0	10,95	61,4
	6	84,6	10,00	71,5
	12	88,0	8,79	84,4
	18	88,6	8,72	85,6
	24	90,3	8,35	91,0
	30	92,3	8,40	92,4
	36	90,0	8,21	92,4
	42	91,5	8,40	92,0
	48	89,0	8,15	92,0
Unbehandelt		92,6	7,82	100,0
Quellung 20° C, 12 Std.	0	93,0	4,66	119,5
	3	93,6	4,48	125,0
	6	96,6	4,45	130,0
	9	92,3	4,72	117,0
	12	92,0	4,62	119,2
	15	85,0	4,82	106,0
	18	85,0	4,62	110,0
	21	72,3	5,65	76,7
	24	65,0	6,07	61,7
Unbehandelt		83,3	5,00	100,0

In gleicher Weise wie beim vorigen Versuch ist das Verhalten des ungebeizten Weizens ein völlig anderes als das des gebeizten Saatgutes. Beim kalt gequollenen Saatgut sehen wir ein kurzes Ansteigen von Triebkraft und Triebgeschwindigkeit über die Werte des unbehandelten Getreides, dem dann aber ein steiler Abfall folgt. Beim warmwassergebeizten Saatgut können wir dagegen einen zunächst rascheren, sich später verlangsamenden Anstieg feststellen. In Abb. 26 sind beide Vorgänge, wie sie sich in den Wertungszahlen widerspiegeln, dargestellt.

Die Feststellung, daß eine vorübergehende Lagerung in beiznassem Zustand die durch die Warmwasserbehandlung hervorgerufenen Keimschäden weniger hervortreten läßt, als dies bei sofortiger Rücktrocknung der Fall ist, ist sehr auffällig. Sie läßt darauf schließen, daß die Schädigung des Saatgutes durch die Beizung kein einfacher Vorgang ist, sondern in 2 Phasen zerfällt: einmal die eigentliche Schädigung durch die Warmwasserbehandlung, zum anderen eine zusätzliche Schädigung, welche das Saatgut erleidet, wenn es unmittelbar nach der Beizung scharf getrocknet wird. Der letztgenannte Schaden kann in unmittelbarem Zusammenhang mit der ersten Schädigung stehen.

In den vorhergehenden Versuchen (Tabelle 21 und 22) war gezeigt worden, daß ungebeiztes, nur kalt gequollenes Saatgut bei längerer Lagerung sehr empfindlich gegen Rücktrocknung wird. Vergleicht man dieses Verhalten mit dem von gebeiztem Saatgut, so kann man den Einfluß der Feuchtlagerung darin suchen, daß die bei der Beizung ebenfalls angelaufenen Entwicklungs-vorgänge, die zwar anderer Art sein dürften als bei der normalen Keimung, nunmehr wieder zum Abklingen gebracht werden. Nach Hollrung (1921) und Gassner (1933) wissen wir, daß es durch intramolekulare Atmung zur Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte, besonders Alkohol, kommt. Einen genauen Einblick in die chemisch-physiologischen Vorgänge im gebeizten Korn haben wir bis heute noch nicht und sind daher weitgehend auf Vermutungen angewiesen. Auch bei der normalen Keimung sind, wie die Untersuchungen von Ruge (1947) zeigen, noch manche Zusammenhänge ungeklärt. Es darf aber wohl angenommen werden, daß bei sofortiger Trocknung dem Samen keine Zeit gelassen wird, die angelaufenen Vorgänge wieder anzuhalten und in normale Bahnen zu lenken (vgl. dazu Geiger, 1928). Bei einer eingeschalteten Feuchtlagerung dürfte eine Möglichkeit hierzu bestehen, und wir können uns vorstellen, daß damit ein Gefahrenmoment beseitigt wird, welches bei sofortiger Trocknung die Keimung ungünstig beeinflußt. Eine endgültige Klärung der bei diesen Vorgängen mitwirkenden Zusammenhänge ist im Augenblick noch nicht möglich. An der Tatsache, daß eine Feuchtlagerung nach der Warmwasserbehandlung die Keimschäden weniger hervortreten läßt, ist nach unseren vielfachen Versuchen nicht zu zweifeln.

Wir haben also in der Steuerung der Rücktrocknung eine Möglichkeit, die Beizschäden weniger scharf hervortreten zu lassen. Für die Praxis dürfte es sich daher empfehlen, das gebeizte Saatgut vor der Trocknung 1—2 Tage feucht liegen zu lassen. Eine leichte Antrocknung dürfte dabei bedeutungslos sein. Bei unseren Versuchen trat ja ebenfalls bei der Ab-

kühlung durch Ausbreitung eine oberflächliche Antrocknung ein, bevor das Saatgut zur weiteren Feuchtlagerung bedeckt wurde. Durch diese Maßnahme wird, wie wir es vielleicht richtiger ausdrücken können, einer Steigerung der Beizschäden vorgebeugt.

Abschließend sei noch einmal auf die Feststellung eingegangen, daß ein schnell verlaufender Trocknungsvorgang bei warmwassergebeiztem Getreide schlechtere Triebkraftwerte zur Folge hat als eine langsame Trocknung (Tabelle 18). Diese Erscheinung steht durchaus im Einklang mit den soeben beschriebenen Befunden, wenn man bedenkt, daß bei langsamer Trocknung das Saatgut noch eine beträchtliche Zeitlang einen hohen Wassergehalt aufweist und somit ebenfalls eine gewisse Feuchtlagerung durchmacht.

3. Der Einfluß der Feuerungsabgase

Bei der großtechnischen Durchführung von Beizungen werden vielfach Feuerungsabgase zur Rücktrocknung des Saatgutes benutzt. Dies mag wohl vom Standpunkt betriebswirtschaftlicher Rentabilität günstig erscheinen, doch fehlt bislang der Nachweis, daß dieses Verfahren für die Keimfähigkeit des Getreides unbedenklich ist.

Wenn schon in der freien Natur das Vegetationsbild in der Umgebung industrieller Anlagen und der Eisenbahn deutlich oft schwerste Schädigungen durch die in den Abgasen der Verbrennung enthaltenen Stoffe aufweist (Haselhoff, 1932), muß befürchtet werden, daß das Saatgut, besonders in nassem und aufgequollenem Zustand, diesen Einflüssen gegenüber nicht indifferent ist. Samen gelten zwar allgemein als verhältnismäßig unempfindlich, jedoch gilt dies vor allem für trockene Samen. Warmwassergebeiztes Saatgut ist aber aktiviert und es ist daher durchaus nicht selbstverständlich, daß es bei der Trocknung mit Feuerungsgasen keinen Schaden nimmt. Infolge der hohen Windgeschwindigkeit und des kurzen Weges zwischen Verbrennungsraum und Trocknungsraum gelangen außerdem auch viele Stoffe auf das Saatgut, die bei industriellen Anlagen sich bereits als Ruß, Flugasche und teerartige Massen im Kamin niederschlagen. Weiterhin bietet das gebeizte Saatgut den Feuerungsgasen eine relativ große, nasse Oberfläche dar, so daß die durchstreichenden Abgase durch Ab- und Adsorption sehr stark gefiltert werden.

Zum Nachweis der Einflüsse der Feuerungsabgase auf die Keimfähigkeit wurde der in unseren bisherigen Versuchen benutzte Warmlufttrockner mit einem Ofen verbunden. Die Abgase der Feuerung wurden nach Abkühlung auf 40° C mit einer Geschwindigkeit von 2 m/Sek. über das Getreide geleitet. Das Saatgut, welches zur Erreichung eines gewissen Schädigungsgrades bei der hohen Temperatur von 48° 1½ Stunden im Warmwasserdauerbad gebeizt war, wurde mit den Abgasen von Ruhrkohle, Braunkohle, Koks und nach kurzem Umbau der Anlage mit elektrisch erwärmer Frischluft 3 Stunden getrocknet. Bei Ruhrkohle und Braunkohle wurde teils mit starker, teils mit schwacher Rauchentwicklung getrocknet. Bei jedem Versuch wurde ein Teil des gebeizten Saatgutes dem jeweils zu untersuchenden Verfahren unterzogen, während gleichzeitig ein anderer Teil durch einfaches Ausbreiten

getrocknet wurde. Auf diese Kontrolltrocknung wurde die Wertungszahl bezogen, die somit das Ausmaß der durch die Abgase zusätzlich hervorgerufenen Schädigungen angibt und einen Vergleich der verschiedenen Verfahren untereinander ermöglicht. Zu Vergleichszwecken wurde auch ungebeiztes, lediglich 12 Stunden bei 20°C aufgequollenes Saatgut solchen Trocknungen mit Feuerungsabgasen unterzogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 zusammengestellt.

Tabelle 23

Einfluß von Feuerungsabgasen auf die Keimfähigkeit von Weizen

Peragis Sommerweizen Beizung: Warmwasserdauerbad

Trocknung: Warmlufttrockner, 40°C, 3 Stunden, Windgeschw. 2 m/Sek.

Kontrolle: Der durch einfache Ausbreitung an der Luft getrocknete Teil jeder Beizprobe

Nr.	Beizung bzw. Vor- behandlg.	Abgase von	Triebkraft, mittlere Triebgeschwindigkeit und Wertungszahl nach Trocknung					
			A. im Warmlufttrockner	B. zugehörige Kontrolle	Trieb- kraft %	mittl. Trieb- geschw. (Tage)	Wertungs- zahl	Trieb- kraft %
1.	48°C 1½ Std.	Ruhrkohle schwache Rauch- entwicklung	71,5	6,55	73,7	87,8	5,90	100,0
2.	48°C 1½ Std.	Ruhrkohle mäßige Rauch- entwicklung	65,0	6,72	62,7	89,0	6,29	100,0
3.	48°C 1½ Std.	Ruhrkohle starke Rauch- entwicklung	63,0	6,89	55,7	91,8	5,84	100,0
4.	20°C 12 Std.	Ruhrkohle schwache Rauch- entwicklung	87,8	5,70	86,5	95,8	5,39	100,0
5.	48°C 1½ Std.	Koks ohne Rauch- entwicklung	67,0	6,70	62,5	87,5	5,47	100,0
6.	20°C 12 Std.	Koks ohne Rauch- entwicklung	88,3	5,81	83,0	96,8	5,30	100,0
7.	48°C 1½ Std.	Braunkohle schwache Rauch- entwicklung	59,5	7,36	85,2	65,5	6,90	100,0
8.	48°C 1½ Std.	Braunkohle starke Rauch- entwicklung	62,5	6,70	52,9	86,5	4,90	100,0
9.	20°C 12 Std.	Braunkohle schwache Rauch- entwicklung	75,0	6,22	68,4	96,8	5,47	100,0
10.	48°C 1½ Std.	Frischluft elektr. erwärmte	88,5	6,30	96,2	91,8	6,29	100,0
11.	20°C 12 Std.	Frischluft elektr. erwärmte	98,3	5,39	98,0	97,0	5,21	100,0

Die geringfügige Differenz zwischen den Triebkraftwerten nach Trocknung mit erwärmer Frischluft und denen nach Trocknung durch Ausbreitung (Kontrolle) wird durch unsere im vorigen Abschnitt gewonnenen Erkenntnisse hinreichend erklärt. Ungleich deutlicher sind aber die Schädigungen, welche alle Saatgutproben, auch die nur kalt gequollenen, nach Trocknung mit Feuerungsabgasen aufweisen. Hier wurden stets Werte erreicht, welche wesentlich unterhalb der Kontrollen liegen.

Ein Parallelversuch mit Gerste (Tabelle 24) zeigte ebenfalls, wenn auch nur in geringeren Ausmaßen, Schäden durch die Trocknung mit Feuerungsabgasen. Die der Gerste anhaftenden Spelzen vermochten die schädlichen Einwirkungen der Abgase nicht völlig fernzuhalten.

Tabelle 24

Einfluß von Feuerungsabgasen auf die Keimfähigkeit von Gerste

Trocknung: Warmlufttrockner, 40°C, 3 Stunden, Windgeschwindigkeit 2 m/Sek.
Kontrolle: Der durch einfaches Ausbreiten an der Luft getrocknete Teil jeder Beizung

Nr.	Beizung bzw. Vor- behandlg.	Triebkraft, mittlere Triebgeschwindigkeit und Wertungszahl nach Trocknung						
		Abgase von	A. im Warmlufttrockner			B. zugehörige Kontrolle		
			Trieb- kraft %	mittl. Trieb- geschw. (Tage)	Wertungs- zahl	Trieb- kraft %	mittl. Trieb- geschw. (Tage)	Wertungs- zahl
1.	45°C $2\frac{1}{2}$ Std.	Ruhrkohle starke Rauch- entwicklung	94,0	6,20	85,8	97,8	5,51	100,0
2.	20°C 12 Std.	Ruhrkohle starke Rauch- entwicklung	91,8	5,38	93,0	96,5	5,21	100,0
3.	45°C $2\frac{1}{2}$ Std.	Frischluft elektrisch erwärmte	95,0	5,86	97,0	94,5	5,68	100,0
4.	20°C 12 Std.	Frischluft elektrisch erwärmte	96,3	5,11	100,1	94,0	5,14	100,0

Auf Grund dieser Ergebnisse muß unbedingt von der Verwendung von Feuerungsabgasen zur Trocknung des Getreides, wie es bislang häufig nicht nur in der Praxis, sondern auch bei wissenschaftlichen Untersuchungen (Bonnie, 1941) geschehen ist, abgeraten werden. Es darf nicht übersehen werden, daß bei Großbeizungen wesentlich längere Einwirkungszeiten in Betracht kommen. Wenn beispielsweise die Feuerungsabgase in einer Büttner-Trommel bei 5 Durchgängen insgesamt etwa 12 Stunden auf das Korn einwirken, muß mit wesentlich stärkerer Beeinträchtigung des Saatgutwertes gerechnet werden.

Welche Komponenten für die Schädigung des Korns speziell in Betracht kommen, kann wegen der Vielzahl der in den Abgasen enthaltenen Stoffe hier nicht entschieden werden. Eine solche Entscheidung würde sehr umfangreiche Versuche erfordern. Zudem war es uns nicht möglich, gleichzeitig Gasanalysen durchzuführen. Da stets mehr oder weniger starke Bleichwirkung zu beobachten war, darf wohl schweflige Säure als maßgeblich beteiligt angesehen werden.

VIII. Der Einfluß mechanischer Beschädigungen

Mechanische Beschädigungen, die besonders beim Maschinendrusch verursacht werden, steigern nach den Feststellungen v. Tübeufs (1902), Volkarts (1906) und Walléns (1916) die Empfindlichkeit des Weizens gegenüber Beizungen mit chemischen Beizmitteln, insbesondere mit Kupferverbindungen. Im Zusammenhang mit der Warmwasserbeize liegen noch keine Angaben über den Einfluß mechanischer Beschädigungen, die auch sehr leicht durch die modernen Transportvorrichtungen (Elevatoren mit Preßluftbetrieb) hervorgerufen werden können, vor. In den folgenden Versuchen (Tabelle 25) ist zunächst der Einfluß der vor der Beizung erfolgten Beschädigung experimentell geprüft worden. Zu diesem Zweck wurde eine durch einen Elektromotor angetriebene, waagerecht rotierende Scheibe mit Schlagleisten in einer Kiste angebracht. Auf diese Scheibe ließen wir das zu prüfende Getreide fallen, wodurch es zunächst durch die Schlagleisten einen heftigen Schlag erhielt und mit großer Geschwindigkeit gegen die Wände der Kiste geschleudert wurde. Der Grad der Beschädigung des einzelnen Kornes unterlag dabei natürlich manchen Zufälligkeiten. Eine Abstufung der Wirkung wurde dadurch erreicht, daß das zu prüfende Saatgut entweder einmal oder mehrfach die Apparatur passierte.

Die Sorte Strubes roter Schlanstedter war durch ungünstige Lagerung in ihrer Keimfähigkeit bereits stark gesunken, als diese Versuche durchgeführt wurden (Tabelle 25a). Mit zunehmender Beschädigung ist ein deutliches Abfallen der Triebkraft schon bei ungebeiztem Saatgut zu verzeichnen,

Tabelle 25
Mechanische Beschädigung vor der Beizung

Beizung: Warmwasserdauerbad, 47°C, 2½ Stunden. Trocknung: durch Ausbreitung
Beschädigungsgrad = Anzahl der Durchläufe durch die Apparatur

Beschädigungsgrad	ungebeizt			gebeizt		
	Triebkraft %	mittl. Triebgeschw. (Tage)	Wertungszahl	Triebkraft %	mittl. Triebgeschw. (Tage)	Wertungszahl
a) Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen						
0	84,0	4,90	100,0	59,0	5,60	61,0
1	72,0	5,00	84,0	54,0	5,82	54,2
2	72,5	4,95	85,0	40,5	5,85	40,2
3	73,5	5,07	84,5	32,0	6,41	29,1
4	72,0	5,19	81,0	30,0	6,38	27,4
5	58,5	5,52	61,8	37,0	6,40	33,8
b) Strubes Dickkopf II						
0	93,6	5,30	100,0	89,6	5,91	85,5
1	90,6	5,15	99,0	83,3	6,07	77,5
2	86,6	5,49	89,2	81,0	6,40	71,4
3	91,0	5,46	94,0	77,6	6,66	65,7
4	87,3	5,49	91,0	76,6	6,80	63,5
5	82,3	5,52	84,5	77,3	6,73	65,0
c) Strubes Dickkopf II						
0	93,3	6,52	100,0	84,0	8,47	69,2
1	91,3	6,80	93,5	87,0	8,30	73,4
3	95,3	6,63	100,0	91,0	8,62	73,4
5	96,3	6,45	104,0	82,3	9,35	61,5

wesentlich stärker jedoch ist der Rückgang der Triebkraft, wenn nach der Beschädigung eine Warmwasserbeize durchgeführt wurde. Die Versuche mit Strubes Dickkopf II ergaben zunächst ein ähnliches Bild (Tabelle 25b), während bei einem weiteren Versuch mit dieser Sorte (Tabelle 25c) nur bei der stärksten Behandlung eine erhöhte Beschädigung des gebeizten Saatgutes festzustellen war. Ganz allgemein läßt sich also sagen, daß beschädigtes Saatgut durch die Warmwasserbeizung stärker in Mitleidenschaft gezogen wird als intaktes.

In den weiteren Versuchen wurde die mechanische Beschädigung erst nach der Beizung durchgeführt, wobei einmal das noch nasse Getreide sofort, im anderen Fall erst nach erfolgter Rücktrocknung behandelt wurde. In einem dritten Versuch wurden auch während der Trocknung Proben entnommen und durch die Schlagleistenapparatur geschickt.

Tabelle 26
Mechanische Beschädigung nach der Beizung

Beizung: Warmwasserdauerbad, 47°C, 2½ Stunden. Trocknung: durch Ausbreitung
Beschädigung: durch einmaliges Passieren der Schlagleistenapparatur

	Triebkraft %	mittl. Trieb- geschw. (Tage)	Wertungs- zahl	Wassergehalt (ganzes Korn)
a) Strubes roter Schlanstedter Sommerweizen				
Kontrolle (unbehandelt)	84,0	4,90	100,0	
Gebeizt, unbeschädigt	59,0	5,60	61,0	
Gebeizt, naß beschädigt	26,0	6,35	23,9	
Nach Rücktrocknung beschädigt	56,0	5,62	58,2	
b) Strubes Dickkopf II				
Kontrolle (unbehandelt)	93,6	5,30	100,0	
Gebeizt, unbeschädigt	89,6	5,91	85,5	
Gebeizt, naß beschädigt	56,0	6,33	50,0	
Nach Rücktrocknung beschädigt	82,3	6,05	76,8	
c) Strubes Dickkopf II				
Kontrolle (unbehandelt)	93,3	6,52	100,8	
Gebeizt, unbeschädigt	84,0	8,47	69,2	
Während der Trocknung beschädigt nach 0 Std.	64,3	10,0	44,7	61,2%
" " 4 Std.	65,6	9,30	49,3	59,2%
" " 16 Std.	85,6	8,84	67,8	37,3%
" " 48 Std.	84,3	8,55	69,0	16,6%

Bei der mechanischen Beschädigung nach der Beizung treten nun außerordentlich starke Triebkraftschäden auf. Das Ausmaß steht, wie besonders der Versuch c zeigt, in Abhängigkeit von dem jeweiligen Wassergehalt im Augenblick der Beschädigung. Daraus ergibt sich, daß das Saatgut nach der Beizung sehr vorsichtig behandelt werden muß, solange es nicht rückgetrocknet ist. Aus dem gleichen Grunde sind natürlich auch während des Beizprozesses alle Beschädigungsmöglichkeiten auszuschalten (Rührwerke).

Die älteren Angaben über die Schädigung mechanisch verletzten Getreides erstrecken sich auf den Einfluß chemischer Stoffe. Hier ist leicht einzusehen, daß die durch die mechanische Beschädigung eintretenden Risse und Sprünge in der Fruchtwand und in der Samenschale, sowie auch im Korn selbst, das

Eindringen der giftigen Beizlösungen erleichtern. Die Auswirkung der Beschädigung bei der Warmwasserbeize läßt sich aber wohl kaum in dieser Weise deuten, besonders nicht bei der Beschädigung nach der Beizung. Selbstverständlich bedeuten auch hier Risse und Sprünge insofern eine Gefahr, als sie das Eindringen von Mikroorganismen begünstigen. Diese Gefahr ist aber bei der Anwendung einer schwachen Ceresanlösung, wie es in unseren Versuchen stets der Fall war, stark verringert. Wir müssen daher auch mit der Möglichkeit anderweitiger innerer Schäden rechnen. In dieser Hinsicht geben uns einige Literaturangaben wichtige Hinweise. Zweifellos ist das Plasma bei dem hohen Quellungsgrad des gebeizten Getreides gegen alle Einflüsse empfindlicher geworden. Nach Weber (1916) treten durch Schwerkraftreizungen (Schütteln) Veränderungen der Plasmaviskosität ein, und nach Küster (1942) wird durch Schleuderung, besonders in wechselnder Richtung, das Molekulargerüst des Protoplasmas in Mitleidenschaft gezogen. Es scheint daher nicht ausgeschlossen, daß bei den von uns untersuchten mechanischen Verletzungen ähnliche Vorgänge mitsprechen.

IX. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Das Warmwasserbad erwies sich als durchaus geeignetes Verfahren zur wirksamen Bekämpfung des Weizenflugbrandes. Durch Feldversuche wurden die für die Bekämpfung in Frage kommenden Beizzeiten und -temperaturen ermittelt, während gleichzeitig durch Triebkraftversuche die bei der Behandlung am Korn auftretenden Beizschäden kontrolliert wurden. Als optimale Behandlung wird auf Grund unserer Untersuchungen ein Warmwasserbad von 46°C und 2½ Stunden Dauer vorgeschlagen.
2. Das vorgeschlagene Warmwasserbad ist wirksamer und dabei ungefährlicher als die bisher übliche Heißwasserbeize nach Vorquellung.
3. Ein Zusatz quecksilberhaltiger Beizmittel zur Beizlösung (Ceresan 0,025—0,03%) beeinflußt das Triebkraftverhalten in günstigem Sinne.
4. Von einer Abschreckung des gebeizten Saatgutes mit kaltem Wasser kann Abstand genommen werden. Kurze Ausbreitung des Getreides nach der Beizung bewirkt genügend schnelle Abkühlung. Das Triebkraftverhalten wird durch Unterlassung der Abschreckung nicht beeinträchtigt.
5. Sehr tiefe und hohe Keimungstemperaturen (+1° bzw. 25°C) lassen die Beizschäden stärker hervortreten als mittlere (15°C). Bei langer Lagerung verliert warmwassergebeiztes Saatgut schneller seine Triebkraft als unbehandeltes.
6. Die Feststellung der Beizschäden muß im Triebkraftversuch erfolgen; die topographische Keimpotenzbestimmung mit Tetrazoliumsalzen ergibt wesentlich zu hohe und damit irreführende Werte.
7. Die wirksame Unterdrückung des Weizenflugbrandes durch das Warmwasserbad hat einen Wasseranstieg auf 65—70% im Embryo zur Voraussetzung; der Wassergehalt des Endosperms liegt wesentlich tiefer. Bei der Rücktrocknung sinkt der Wassergehalt im Embryo

schneller als im Endosperm. Wenn der Wassergehalt im Embryo auf etwa 30% gesunken ist, liegt er mit dem des Endosperms auf gleicher Höhe und bei weiterer Trocknung liegt er unterhalb des Wassergehaltes des Endosperms.

8. Schnelle Rücktrocknung unmittelbar nach der Beizung bewirkt Herabsetzung der Triebkraft, langsame Trocknung ist weniger gefährlich.
9. Warmwassergebeizter Weizen, welcher nicht sofort, sondern erst nach 1—2 Tagen scharf getrocknet wird, zeigt mit zunehmender Dauer dieser beiznassen Lagerung steigende Triebkraft bei zunehmender Triebgeschwindigkeit. Daraus folgt, daß die schnelle Trocknung an sich unschädlich ist. Entscheidend dagegen ist der Zeitpunkt der Trocknung. Es spricht vieles dafür, daß während der Beizung Stoffwechselvorgänge eingeleitet werden, die dadurch wieder zum Abklingen gebracht werden daß das Getreide vor der scharfen Rücktrocknung erst beiznaß gelagert wird.
10. Die Benutzung von Feuerungsabgasen zur Rücktrocknung verursacht je nach Brennstoffart und Feuerungsweise wechselnde aber stets ziemlich erhebliche Keimschäden und sollte daher in der Praxis vermieden werden.
11. Mechanische Beschädigung vor der Beizung ruft bei der Warmwasserbehandlung nur schwache zusätzliche Schäden hervor. Nasses, gebeiztes Saatgut dagegen ist äußerst empfindlich gegen Erschütterungen durch Schlag und Stoß. Diese Empfindlichkeit ist vom Wassergehalt im Augenblick der Beschädigung abhängig.

Literaturverzeichnis

- Appel, O. Über die Bekämpfbarkeit des Weizen- und Gerstenflugbrandes. Deutsche Landw. Presse **35**, 799, 1908.
- Appel, O. und Gassner, G. Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse von den Flugbrandarten des Getreides. Mitt. d. Kais. Biol. Anst. **3**, 1—20, 1907.
- Appel, O. und Gassner, G. Ein neuer einfacher Apparat zur Durchführung der Heißwasserbehandlung des Saatgutes. Ebenda.
- Appel, O. und Riehm, E. Untersuchungen über den Flugbrand des Getreides. Ebenda **8**, 9—13, 1909.
- Appel, O. und Riehm, E. Die Bekämpfung des Flugbrandes von Weizen und Gerste. Arb. a. d. Kais. Biol. Anst. **8**, 339, 1911.
- Bonne, C. Beitrag zur Flugbrandbekämpfung des Weizens. Untersuchungen zur Heißwasser-Kurzbeize. Angew. Bot. **23**, 6, 1941.
- Brefeld, O. und Falck, R. Die Blüteninfektion bei den Brandpilzen und die natürliche Verbreitung der Brandkrankheiten. Münster i. W. 1905 (zitiert nach Gassner 1933).
- Brown, A. J. On the existence of a semipermeable membrane enclosing the seeds of some of the Gramineae. Ann. Bot. **21**, 79, 1907.
- Collins, E. J. The structure of the integumentary system of the barley grain in relation to localized water absorption and semipermeability. Ann. Bot. **32**, 381, 1918.
- Eberhard, C. Untersuchungen über das Vorquellen der Samen. Dissert. Jena 1906.
- Filter, P. Über die Wasseraufnahme und Keimung der Samen unter verschiedenen, namentlich erschwerenden Bedingungen der Wasserzufluhr. Dissert. Berlin 1914 (zitiert nach Lehmann-Aichele: Keimungsphysiologie der Gräser, Stuttgart 1931).

- Fuchs, W. H. und Beiler, A. Über die Heißwasserempfindlichkeit der Karyopsen des Weizens. I. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **61**, 164, 1943.
- Gassner, G. Biologische Grundlagen der Prüfung von Beizmitteln zur Steinbrandbekämpfung. Arb. a. d. Biol. Reichsanst. f. Land- und Forstwirtschaft **11**, 339—372, 1923.
- Gassner, G. Über den gegenwärtigen Stand der Stimulationsfrage. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **44**, 341, 1926.
- Gassner, G. Neue Wege zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes durch Beizung. Phytopathol. Zeitschr. **5**, 407—433, 1933.
- Gassner, G. und Kirchhoff, H. Versuche zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbefeiz. II. Mitteilung. Phytopathol. Zeitschr. **7**, 271—284, 1934.
- Gassner, G. und Kirchhoff, H. Die Bedeutung der Wasseraufnahme des Weizenkornes, insbesondere des Weizenembryos, für die Wirkung und Wirkungsweise der Warmwasseraufschwemmung und Benetzungsbefeiz. Phytopathol. Zeitschr. **9**, 229—258, 1936.
- Geiger, M. Beitrag zur Kenntnis der Physiologie keimender Samen. Jb. w. Bot. **69**, 331—356, 1928.
- Gurewitsch, A. Untersuchungen über die Permeabilität der Hülle des Weizenkornes. Jb. w. Bot. **70**, 657, 1929.
- Haselhoff, E. Grundzüge der Rauchschadenkunde. Bornträger, Berlin, 1932.
- Hecke, L. Ein innerer Krankheitskeim des Flugbrandes im Getreidekorn. Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich **7**, 1, 1904 (zitiert nach Gassner, 1933).
- Hollirung, M. Das Lauwasserbad als Entbrandungsmittel. Fühlings Landw. Ztg. **70**, 96—110, 1921.
- Honecker, L. Erfahrungen und Beobachtungen über das Auftreten des Gerstenflugbrandes und über die Wirkung verschiedener Verfahren seiner Bekämpfung. Prakt. Bl. f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz **19**, 186—201, 1941/42.
- Jensen, J. L. Om Konsorternes Brand. (Anden Meddelelse.) Kopenhagen 1888 (zitiert nach Gassner, 1933).
- Kirchhoff, H. Über den Einfluß der Keimungstemperatur und anderer Keimbettfaktoren auf das Verhalten gebeizten Getreides. Dissertation Braunschweig 1931.
- Korhammer, K. Nochmals: „Flugbrandbekämpfung bei Wintergerste in Eckendorf“. Nachr. über Schädlingsbekämpfung **14**, 44—47, 1939.
- Küster, E. Ergebnisse und Aufgaben der Zellmorphologie. Th. Steinkopf, Dresden und Leipzig, 1942.
- Lakon, G. Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit der Getreidefrüchte durch Tetrazoliumsalze. Ber. D. Bot. Ges. **60**, 299—306, 1942.
- Molz, E. und Müller, K. Über die Tieftemperaturprüfung des gebeizten Saatgutes. Pflb. (Schlegel) **2**, 185, 1925/26 (zitiert nach Lehmann-Aichele).
- Oetken, W. Versuche über den Staubbrand des Sommerweizens. D. Landw. Presse **40**, 35—37, 49—50, 1913.
- Pichler, F. Zur Frage der Bekämpfung des Gersten- und Weizenflugbrandes. Mitt. f. d. Landw. **58**, 971—972, 1943.
- Plate, F. Richerche sui fenomeni d'imbiazione dei semi di Avena sativa. Rendiconti R. Acad. dei Lincei. Cl. Sci. Fis. Ac. **5**. Ser. 22, 1913 (zitiert nach Lehmann-Aichele).
- Poulsen, A. Warmwasserbehandlung von Gerste. Nachr. über Schädlingsbekämpfung **9**, 141—145, 1934.
- Rudolfs, W. Influence of water and salt solution upon absorption and germination of seeds. Scil. Se. **20**, 15—37, 1925 (zitiert nach Lehmann-Aichele).
- Ruge, U. Untersuchungen über keimungsfördernde Wirkstoffe. Planta **35**, 297, 1947.
- Schaumburg, A. Beiträge zur Frage der Bekämpfung des Weizenflugbrandes mit besonderer Berücksichtigung der Anforderungen des Saatzuchtbetriebes. (Aus dem Bot. Inst. der Techn. Hochsch. Braunschweig.) Diss. Jena 1924.
- Schroeder, H. Über die selektiv-permeable Hülle des Weizenkorns. Flora (N. F. 2), 186—208, 1911.
- Schuk, K. Neue Form der Warmwasserbeize gegen *Ustilago tritici* und *Ustilago nuda*. Agrobiol. Nr. 1, 103—113, Moskau 1947. (Russisch). (Zitiert nach Nachr. f. d. Pflanzenschutzdienst, Heft 3, Jg. 1.)

- Schütz, W. Über die Einwirkung von Beizmitteln auf Keimung und Wachstum des Weizens. Bot. Arch. **33**, 199, 1931.
- Spiekermann, A. Beiträge zur Saatgutbeize. Ill. Landw. Ztg. **34**, 665—666, 1914.
- Störmér, K. Die Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. Landw. Wochenschrift f. d. Prov. Sachsen 43—44, 1910.
- Störmér, K. Zur Bekämpfung des Flugbrandes. Ebenda 91—92, 1910.
- Störmér, K. Über die Ergebnisse der im Verein mit der Gesellschaft zur Förderung deutscher Pflanzenzucht durchgeföhrten diesjährigen Flugbrandbekämpfungsversuche. Beitr. zur Pflanzenzucht **1**, 84—102, 1911.
- Störmér, K. Die Bekämpfung des Gersten- und Weizenflugbrandes. Deutsch. Landw. Presse **38**, 1006—1007, 1017, 1911.
- Tubeuf, v. Studien über die Brandkrankheiten des Getreides und ihre Bekämpfung. Arb. a. d. Biol. Reichsanst. **2**, 179, 1902.
- Vanderwalle, R. und Larose, E. La désinfection à l'eau chaude des semences de froment contre le charbon nu *Ustilago nuda* Tritici Schaf. Bull. Inst. agron. Gembloux **5**, 1, 1936.
- Volkart, A. Die Bekämpfung des Steinbrandes des Weizens und des Kornes. Landw. Jahrb. d. Schweiz **20**, 445—490, 1906.
- Walldén, J. N. Tröksdada å hvete och råg samt dess inflytande på känsligheten för betning och lagring. Sveriges Utsädeförenings Tidskrft **1**, 24—47, 1916.
- Walter, H. Verdunstungsmessungen auf kleinstem Raume in verschiedenen Pflanzen- gesellschaften. Jb. w. Bot. **68**, 233, 1928.
- Weber, G. und Weber, F. Wirkung der Schwerkraft auf die Plasmaviskosität. Jb. w. Bot. **57**, 129—188, 1916/17.
- Weck, R. Flugbrandbekämpfung bei Wintergerste in Eckendorf. Pflanzenbau **14**, 12, 1938.

Ein Beitrag zum Problem der induzierten Abwehrreaktionen im Pflanzenreich

Von

Hans Heß

Inhaltsübersicht: 1. Kapitel: Einleitung und Begriffe. — 2. Kapitel: Problemstellung. — 3. Kapitel: Literaturübersicht. — 4. Kapitel: Eigene Untersuchungen. A. Allgemeines. B. Vorversuche: 1. Die Krankheitsanfälligkeit verschiedener Weizen- und Gerstensorten für *Helminthosporium sativum*; 2. Der Krankheitserreger; 3. Die verwendeten Nährböden. C. Versuche mit Extrakten aus Nährböden und Myzel (Wiederholung der Versuche von Zojá und Leemann). D. Versuche mit Kulturfiltrat: a) Vorversuche; b) Untersuchungen mit Hayduk-Kulturfiltrat; 1. Über die Stabilität toxischer Substanzen im Kulturfiltrat; 2. Über ein neues Antibiotikum gegen *Bacillus mesentericus* Flügge im Hayduk-Kulturfiltrat; a) Die Methodik. β) Die Bildung toxischer Substanzen als Funktion der Zeit, γ) Die Thermolabilität, δ) Versuche zur Isolierung des Antibiotikums, ε) Die Wirkung des Antibiotikums auf die Keimung und das Wachstum der Gerste; c) Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche mit Kulturfiltrat. E. Versuche über unmittelbare Antigenwirkung durch den Erreger. F. Versuche über Praemunität: 1. Allgemeines; 2. Versuchsanordnung zum Nachweis humoraler Abwehrstoffe; 3. Versuchsanordnung zum Nachweis lokaler Abwehrstoffe; 4. Ergebnisse. — 5. Kapitel: Diskussion der Ergebnisse und Schlußfolgerungen. — Anhang: Literaturverzeichnis.

1. Kapitel Einleitung und Begriffe

Unter den zahlreichen Problemen, die den Pflanzenpathologen beschäftigen, sind nur wenige von so großem wissenschaftlichem Interesse und so weittragender praktischer Bedeutung wie Resistenz und Immunität, sagte 1911 Freemann in seinem Aufsatze im ersten Bande der „Phytopathology“.

In dieser Feststellung sind zwei Begriffe enthalten, die in der Literatur vieldeutige Verwendung finden, und für die hier darum die heute anerkannten Definitionen (Gäumann, 1946) gegeben werden sollen:

1. „Resistenz ist die mangelnde Eignung eines Organismus, als Wirt zu dienen.“ Die Resistenz ist schon praeinfektionell vorhanden, wird als solche vererbt, ist in ihrem Wesen passiv, da sie auf strukturellen Hindernissen beruht; ihr Geltungsbereich ist unspezifisch, und sie ist als eine Nebenwirkung anzusehen.
2. Immunität bedeutet die „Fähigkeit eines Organismus zur aktiven Abwehr des pathogenen Agens“. Zusatz: Sie setzt also Abwehrreaktionen voraus, die entweder von Natur aus im Organismus vorhanden sind (autonome Abwehrreaktionen) oder erst durch eine Vorerkrankung sensibilisiert werden (induzierte Abwehrreaktionen). Die Abwehrreaktionen richten sich gegen den Erreger selbst (antiinfektionelle Abwehrreaktionen) oder gegen seine Toxine (antitoxische Abwehrreaktionen).

3. Praemunität: „Ein noch bestehender Infekt schützt gegen eine Superinfektion.“ Bei der erworbenen Immunität schützt die Heilung von einem Infekt gegen eine Reinfektion.

Als weitere Fachausdrücke, die in der vorliegenden Arbeit Verwendung finden, seien definiert (Gäumann, 1946):

4. Die Aggressivität ist die „Fähigkeit des Erregers, seine Wirtspflanze zu infizieren, zu bewohnen, ihren Widerstand zu überwinden, sie zur eigenen Ernährung zu benutzen und sich in ihr oder auf ihr zu vermehren“.
5. Die Pathogenität ist die „krankmachende Fähigkeit des Erregers“.
6. Antigene sind Substanzen, „die einen Organismus zur Bildung von Antikörpern (Antitoxinen) veranlassen, mit denen sie sich in vivo und teilweise auch in vitro verbinden“ (Frei, 1946).

2. Kapitel

Problemstellung

Das Problem der Immunität wurde von Zoja (1924) am Beispiel der Streifenkrankheit des Weizens (*Triticum vulgare* Vill.), verursacht durch einen Imperfekten, *Helminthosporium sativum* P. K. B., untersucht.

Die geprüfte Erscheinung, nämlich Sensibilisierung des Wirtes durch die Stoffwechselprodukte des Erregers, gehört nach Definition unter die induzierten antiinfektionsen Abwehrreaktionen.

Die Verfasserin zerrieb eine Kultur von *Helminthosporium sativum* in einem Mörser mit Quarzsand und Aq. dest. Die Kultur war auf Reis-Agar gewachsen. Nach 24 Stunden wurde das zerstoßene Myzel mit Filterpapier bedeckt, und es wurden sterile Weizenkörner darauf zum Keimen gebracht. Zur Kontrolle dienten Körner, die auf Filterpapier gelegt wurden, das mit Aq. dest. befeuchtet war. Die Keimung erfolgte in einer Feuchtkammer. Als die Pflanzen eine genügende Größe erreicht hatten, wurden sie ins Freie gepflanzt und 2 Tage später infiziert.

Ergebnis: Die Pflanzen, welche auf Kulturextrakt keimten, erkrankten im Gegensatz zu den Kontrollen nicht. Das Experiment wurde mehrere Male wiederholt, und die Resultate waren stets dieselben.

Die Beobachtung der Versuchsreihen zeigte, daß die Keimlinge durch den Kulturextrakt in ihrem Wachstum stark gehemmt wurden.

Zoja schloß aus diesen Versuchen, daß im Kulturextrakt Stoffe mit Antigen-Charakter vorhanden sein müßten, und sie prüfte in weiteren Versuchen das thermische Verhalten derselben. Es zeigte sich, daß die Stoffe mit Antigen-Wirkung eine Stunde (unter nicht angegebenen Bedingungen, z. B. pH) ohne Schaden auf 50—55°C erhitzt werden durften, daß sie aber beim Kochen zerstört wurden. Als Maßstab der Erkrankung dienten die Fleckenzahl und die mikroskopische Analyse von Blattquerschnitten. In diesen Versuchen waren die Pflanzen, die auf gekochtem Kulturextrakt keimten, im Wachstum nicht gehemmt, während diejenigen, die auf Kulturextrakt keimten,

der auf 50—55°C erhitzt worden war, so stark geschädigt wurden wie jene auf nicht erhitztem Extrakt.

Über die Dauer der Immunität liegen keine genauen Ergebnisse vor. Zoja nimmt an, daß sie nicht länger als einen Monat dauere.

Dasselbe Problem wie Zoja (1924) untersuchte Leemann (1932); er arbeitete ebenfalls mit der Streifenkrankheit des Weizens.

Der Kulturextrakt wurde gewonnen, indem Wasser dem Agar (Rezept im 4. Kapitel), auf welchem der Pilz wuchs, beigegeben und das Ganze 4 Tage bei 47°C aufbewahrt wurde. Nachher wurden Weizenkörner während 21 Stunden in den Extrakt gelegt und bei Zimmertemperatur aufgestellt.

Ein Teil der Körner wurde sofort nach der Behandlung zum Keimen gebracht: andere wurden getrocknet und erst nach 14 Tagen ausgesät. Beide Versuchsreihen zeigten nur wenige Infektionen. In einem anderen Versuche wurde das Myzel, das auf einem flüssigen Nährmedium gewachsen war, durch Hitze abgetötet und während 2 Wochen zu 25°C gestellt. In dieser Zeit färbte sich das Myzel durch Zersetzung braun, und es wurde dann mit Erde vermischt. Die darauf keimenden Pflanzen zeigten eine gewisse Immunitätshöhe.

Die vorliegende Arbeit bezweckt nun, die Versuche von Zoja und Leemann nachzuprüfen und die Ergebnisse nach den neuesten Kenntnissen der Immunitätslehre auszuwerten.

3. Kapitel

Literaturübersicht

Der Antrieb zu Untersuchungen auf dem Gebiete der pflanzlichen Immunität kam von der Humanmedizin her; entsprechend sind Fragestellungen und Untersuchungsmethoden.

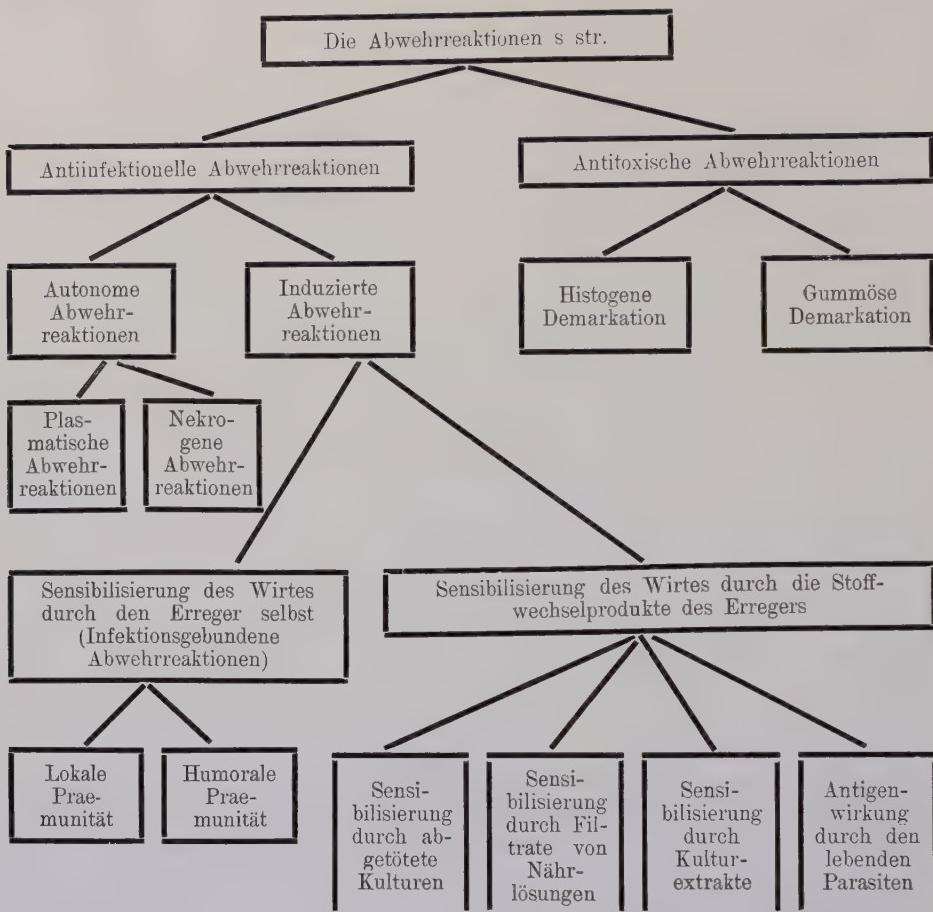
Es handelt sich also um eine junge Wissenschaft: die ersten Arbeiten erschienen um 1900. Bis heute ist die Zahl der Publikationen auf etwa 300 angestiegen; davon werden hier jene nicht zitiert, die sich nach der im ersten Kapitel gegebenen Definition mit Faktoren der Resistenz befassen.

Die Arbeiten über die Abwehrreaktionen s. str. wurden nur so weit berücksichtigt, als sie sich mit dem Problem der induzierten antiinfektionellen Abwehrreaktionen befassen.

Das folgende Schema (S. 44) soll die bereits im Zusatz zur Definition der Immunität angeführte Unterteilung derselben verdeutlichen und zugleich eine Übersicht geben von der Anordnung des hier zu behandelnden Stoffes.

In Tabelle 1 sind die Arbeiten, die von lokaler Praemunität handeln, zusammengestellt. Durch eine Vorerkrankung entsteht eine örtlich begrenzte erhöhte Reaktivität bestimmter Gewebe: Superinfektionen kommen nicht zum Haften, der Wirt besitzt eine erworbene Infektionsimmunität.

Die interessanten Arbeiten über Virosen (Kunkel, 1934; Salaman, 1933) wurden hier nicht berücksichtigt, da die Verhältnisse bei den Virosen anders liegen als bei den Bakteriosen und Mykosen: bei Virosen ist nur eine erworbene Erkrankungsmimmunität bekannt.



Bei der Interpretation der Untersuchungen an Bakteriosen ist große Vorsicht am Platze.

Nobécourt (1933) berichtet, daß es Coons und Kotila gelungen sei, mit Bakteriophagen eine Infektion von Kartoffelknollen und Karotten durch *Bac. atrosepticus* und *Bac. carotovorus* zu verhindern.

Die Untersuchungen von Chester (1933) ergaben, daß *Bact. tumefaciens* immer von einem Phagen begleitet ist, der sich in der Umgebung von Tumoren auch im gesunden Gewebe aufhält; er konnte auch in den Wurzeln von *Beta vulgaris* nachgewiesen werden, die nicht mit *Bact. tumefaciens* infiziert worden waren. Da die Herkunft der Bakteriophagen noch unklar ist und wir über ihre Verbreitung auch nur wenig wissen, dürfen wir sie vorläufig nicht als Antitoxine ansprechen.

Es bleibt deshalb bei allen positiv verlaufenen Immunitätsversuchen mit Bakteriosen der berechtigte Einwand, es könnte ein Phag im Spiele sein.

Silberschmidt (1931, 1932, 1933), Kosthoff (1932), Whitaker und Chester (1933) weisen in ihren umfangreichen Untersuchungen auf

Tabelle 1
Lokale Praemunität bei Pflanzen

Autor	Wirt	Erreger	Methode	Ergebnis
Arnaudi, C. 1942	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Phytophthora</i>	Infektion der Knollen mit avirulentem Stamm	Schutz gegen Superinfektionen virulenter Stämme
Beauverie, J. 1901 ¹⁾	<i>Begonia sp.</i>	<i>Corticium vagum var. ambiguum</i> Baldacci et Cabrini	Beimischen von Myzel avirulerer Stämme zu Erde	Kräftiges Wachstum; Immunität gegen virulente Stämme
Bernard, N. 1909	Orchideen	Mykorrhizen-Pilze <i>Rhizoctonia repens</i> -Bern. <i>Rhizoct. mucoroides</i> Bern.	Infektion der Wurzel mit avirulenten Stämmen. Superinfektion mit virulenten Stämmen	Superinfektionen gingen nicht an. Reaktionen gruppenspezifisch
Magrou, J. 1918	<i>Solanum tuberosum</i> <i>Sol. Maglia</i>	endophytische Wurzel-pilze	wie bei Bernard 1909	wie bei Bernard 1909
Magrou, J. 1938	<i>Pelargonium zonale</i> . <i>Chrysanth. frutescens</i>	<i>Bact. tumefaciens</i>	Saft aus Tumoren gewonnen	Agglutinierende Wirkung auf <i>Bact. tumefaciens</i>
Müller, K.O. u. Börger, H. 1941	Kartoffel	<i>Phytophth. infestans</i>	Impfung von Knollen mit parabiotischem Stamm. Superinfektion mit eusymbiotischem Stamm	An den Infektionsstellen des parabiotischen Stammes gingen Superinfektionen nicht an
Ray, J. 1901 ¹⁾	Weizen Hafer Lupine Bohnen	<i>Bac. putrefaciens</i> Ray <i>Bac. carotovorus</i> Jones	Mehrmalige Impfung mit avirulentem Stamm in Wurzeln, Hypokotyl und Kotyledonen	Leichtes Welken der Pflanzen. Virulente Stämme störten Pflanzen nur wenig. Kontrollen gingen ein
Sardiña, J.R. 1926	<i>Opuntia Lindheimeri</i>	Erreger der Schwarzbeinigkeit	Lebende Bakterienaufschwemmung eingespritzt und Preßsaft geprüft	Keine Agglutinine und Praecipitine
Schiff-Giorgini, R. 1905	<i>Opuntia spec.</i>	do.		
	<i>Op. Ficus ind.</i>	do.		
	<i>Vicia Faba</i>	do.		
	<i>Cucurbita Pepo</i>	do.		
	<i>Solanum tub.</i>	do.		
	Ölbaum	<i>Bac. oleae</i>	Gewinnung von Säften aus Tumoren und deren nächster Umgebung	Kräftige lytische, agglutinierende und tödliche Wirkung für <i>Bac. oleae</i>

¹⁾ Zit. nach Baldacci 1936.

Tabelle 2
Humorale Praemunität bei Pflanzen

Autor	Wirt	Erreger	Methode	Ergebnis
Arnaudi, C. 1925	<i>Pelargonium</i>	<i>Bact. tumefaciens</i> Smith et Townes.	Superinfektion in verschiedener Entfernung von den Tumoren	Superinfektion gelang nur in größerer Entfernung als 2–3 cm vom Tumor weg
Brown, N. 1911 ¹⁾	<i>Olea europaea</i>	<i>Bact. S窖vastanoi</i> Smith	Superinfektion	positiv
Brown, N. 1923	Chrysanthemen, Rosen	<i>Bact. tumefaciens</i> Smith et Townsend	Superinfektion	positiv. In 2 Fällen vorübergehender Schutz
Gäumann, E. 1946	<i>Quercus Robur L.</i>	<i>Microsphaera alph.</i>	Wiederholung des Versuches von Montemartini (1930)	Kein Unterschied in der Anfälligkeit
Magrou, J. 1938	<i>Pelargonium zonale</i>	<i>Bact. tumefaciens</i>	Superinfektionen	Wenn Pflanze einen Tumor trägt, ist sie meist schon ganz geschützt
Manil, P. 1936	Tabak	<i>Bact. tumefaciens</i> <i>Bact. tabacum</i>	Superinfektionen auf andern Blättern	Kein humoraler Schutz
Montemartini, L. 1930	<i>Quercus spec.</i>	<i>Microsphaera alphitoides</i> Griff. et Maubl.	6 Eichen infiziert, 6 bleiben gesund. Im folgenden Jahre alle 12 infiziert	Die ersten 6 blieben mit einer Ausnahme gesund. Die andern 6 erkrankten
Nem��c, B. 1929 ¹⁾	grün Kohl blau	<i>Bac. pyocyaneus</i>	Superinfektion	Lokale Praemunität
Nob��-court, P. 1928	<i>Ricinus communis</i> L.	<i>Bact. tumefaciens</i>	Superinfektion	negativ
Parker-Rhodes, A. F. 1939	<i>Trifolium vulgare</i> Vill.	<i>Puccinia gram-tritici</i> , <i>Puccinia dispersa</i>	Blätter infiziert, nach 3 Tagen Pilz durch Einlegen der Blätter in Wasser von 40° C (15 Min.) getötet	Infektionen haften nur, wenn andere Rostart verwendet wurde
Redaelli, P. 1934 ¹⁾	<i>Stapelia hirsuta</i>	<i>Bact. tumefaciens</i>	Superinfektion auf Hauptästen: über dem Tumor unter dem Tumor auf Seitenästen	12 pos. und 4 neg. langsamere Entwicklung der Tumore positiv
Riker, 1926	Paradies-apfel	<i>Bact. tumefaciens</i>	Superinfektion bei verschiedenen Umweltbedingungen	positiv wie Kontrollen
Smith, T. E., Brown, C. O. u. Townsend 1911	<i>Chrysanthemum frutescens</i> L.	<i>Bact. tumefaciens</i>	Superinfektion	Keine Unterschiede zwischen vorerkrankten Pflanzen und den Kontrollen negativ

¹⁾ Zit. nach Baldacci 1936.

die großen analytischen Schwierigkeiten hin, pflanzliche Praezipitine und Agglutinine sicher nachweisen zu können. Die Reaktionen hängen von Faktoren ab, die sich der Analyse entziehen. Obwohl diese Autoren mit den gleichen Objekten und unter möglichst gleichen Bedingungen arbeiteten, fielen die Resultate verschieden aus. Diese Tatsache lässt die Vergleichbarkeit und den Aussagewert der in den verschiedenen Tabellen zusammengestellten Ergebnisse über Bakteriosen, die mit den verschiedensten Objekten und Methoden erzielt wurden, als sehr gering erscheinen.

In Tabelle 2 sind die Untersuchungen über humorale Praemunität zusammengestellt. Die meisten Forscher arbeiteten mit Bakterien; die Ergeb-

Tabelle 3
Sensibilisierung von Wirtspflanzen durch abgetötete Kulturen des Parasiten

Autor	Wirt	Erreger	Methode	Ergebnis
Arnaudi, C. 1933		<i>Thielariopsis basicola</i>	Abtöten: 60—70° C; Äther oder Chloroformdämpfe; 2% Formol. Samen nach Quellung damit behandeln; Einspritzen in die medulläre Höhle oder unter die Epidermis	Pflanzen im Wachstum gehemmt; weniger auffällig. Oft Ablauf der Krankheit nur verlangsamt
Brown, N. 1923	Chrysanthemen Rosen	<i>Bact. tumefaciens</i> Sm. et T.	Abtöten der Bakterien bei 60° C. Injektionen in die Leitbündel	Infektionen gingen nur dann nicht an, wenn an der genau gleichen Stelle ausgeführt, wo tags zuvor tote Kultur eingeführt wurde
Manil, P. 1936	Tabak	<i>Bact. tumefaciens tabacum</i>	Abtöten bei 58° C oder mit 2% Formol. Injektion in die Leitbündel. Infektion nach 3—10 Tagen	Kein Unterschied in der Erkrankung gegenüber den Kontrollen. Gegensatz zu Gheorghiu
Passalacqua, T., 1933	<i>Pelargonium zonale</i>	<i>Bact. barker</i> (Berridge)	Abtöten durch Wärme und Formol, Vakzination und Infektion durch direkte Aufnahme der beblätterten Zweige	Ausbriuch der Krankheit bis 20 Tage hinausgeschoben
Sardiña, J.R. 1926	<i>Opuntia Lindheimeri</i> <i>Opuntia Ficus indica</i> <i>Opuntia spec.</i>	Erreger der Schwarzbeinigkeit	Steigende Mengen abgetöteter Bakterien (60° C) eingespritzt	Keine Agglutinine und Praecipitine
	Tomaten	do.	do.	do.
Savulescu, M. Tomesco, V. 1940	<i>Sorghum exiguum</i> Forsk.	<i>Pseudomonas Holci</i>	Begießen der Keimlinge mit toten Kulturen	Zeitdauer bis zum Erscheinen d. Krankheitsmerkmale (Inkubationszeit) verlängert

Tabelle 4
Sensibilisierung von Pflanzen durch Filtrate von Nährösungen der Parasiten

Autor	Wirt	Erreger	Methode	Ergebnis
Arnaudi, C. 1925	Kartoffel	<i>Bac. mesentericus</i>	Kulturfiltrat auf Scheiben von Knollen gegossen	Knollen bewachsen wie die Kontrollen
Arnaudi, C. 1933	Bohne	<i>Botrytis cinerea</i>	Samen und Keimlinge mit Kulturfiltrat behandelt	Verzögerung des Krankheitsverlaufes
Baldacci, E. 1933	Weizen	<i>Acrostalagmus cephalosporoides</i>	Keimung auf Kulturfiltrat	Kein Unterschied gegenüber den Kontrollen
Baldacci, E. Cabrini, E. 1938	Weizen Erbse Bohne	<i>Corticium vagum</i>		Hemmen der Keimung. Keine Purinverbindungen im Kulturfiltrat gefunden
Capelletti, C. 1930 ¹⁾	<i>Allium spec.</i>	<i>Corticium spec.</i>	Angeschnittene Zwiebel mit Filtrat behandelt, Keimung nach 1 Jahr	10 von 22 Pflanzen starben sofort. Auf den übrigen lebte der Pilz saprophytisch
Carbone, D. Kalajev, A. 1933	Bohne	<i>Botrytis cinerea</i>	Pflanzen mit Kulturfiltrat behandelt Andere mit H_2SO_4 , Koffein, benzoësaurerem Kalium, salizylsaurem Kalium behandelt	Schädigung; weniger anfällig als Kontrollen Schädigung; größere Anfälligkeit als bei den Kontrollen
Carbone, D. 1934	Bohne	<i>Botrytis cinerea</i>	Bohnen keimten auf Kulturfiltrat	Behandelte Pflanzen vermochten sofort mit einer histogenen Demarkation zu reagieren. Kontrollen gingen ein
Carbone, D. Alexandri, V. 1935	Bohne Saubohne Linse	<i>Bact. proteus</i> <i>Bact. prodigiosum</i>	Nachprüfung der Ergebnisse von Frémont	Keine Agglutinine, Lysine und Praecipitine gefunden
Hansen, H.P. 1932	<i>Brassica napus</i>	<i>Corticium spec.</i>	Keimung der Samen auf Kulturfiltrat. Pflanzen nachher in infizierten Boden gepflanzt	Keine immunisierende Wirkung
Jarach, 1932	Bohne	<i>Botrytis cinerea</i>	Keimung der Pflanzen auf Kulturfiltrat. Ein Teil der Pflanzen mit Äther- und Chloroformdämpfen abgetötet	Getötete Pflanzen wurden vom Pilz durchwuchert, die andern nicht. Keine Gifstoffe aufgenommen, sondern an das Leben gebundene Immunität

¹⁾ Zit. nach Baldacci 1936.

Noch Tabelle 4

Autor	Wirt	Erreger	Methode	Ergebnis
Manil, P. 1936	Tabak	<i>Bact. tabacum</i>	Einspritzen von Kulturfiltrat	Behandelte Pflanzen erkrankten wie die Kontrollen.
	Bohne	<i>Bact. Syringae</i>	Keimung auf Kulturfiltrat	Pflanzen welkten und gingen nach 10 Tagen ein
Nobécourt, P. 1928	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Einwirkung des Kulturfilters während 10—15 Tagen	Behandelte Pflanzen blieben gesund, Kontrollen fielen um
	<i>Vicia Faba</i>	<i>Bac. carotovorus</i>	Behandlung mit Kulturfiltrat verschiedener Konzentration	Je nach Verdünnung des Kulturfilters erkrankten die Pflanzen oder blieben gesund
Potter 1909, zit. nach Arnaudi 1933	Orange	<i>Penicillium spec.</i>	Imbibition einer Orange mit Kulturfiltrat	Pilz wuchs auf der Frucht nicht weiter. Potter schloß auf Hemmung durch eigene Stoffwechselprodukte
Redaelli, P. 1934 ¹⁾	<i>Stapelia hirsuta</i>	<i>Bact. tumefaciens</i>	Behandlung mit Kulturfiltrat. Nachher Pflanze $3 \times \frac{1}{2}$ Std. auf 60°C erwärmt. Infektion nach 5, 10, 20, 30, 60 Tagen	Überall Tumorbildung
Tehon, L. R. 1944	Ulme	<i>Verticillium albo-atrum</i>	10 Tage Pilz auf Nährlösung, dann filtriert	Behandelte Pflanzen erkrankten nicht

nisse sind sehr widersprechend, und es ist schwer zu entscheiden, ob den negativen oder den positiven Resultaten ein größeres Gewicht zukommt.

In den Tabellen 3, 4 und 5 sind Verhältnisse betrachtet, wie sie in der Natur nirgends realisiert sind.

Ausgesprochene Laboratoriumsmethoden führten zu diesen Ergebnissen. Irgendwelche Stoffwechselprodukte von vorübergehend im Boden saprophytisch lebenden Parasiten können ja leicht vom polydispersen System Boden adsorptiv festgehalten werden.

Es interessieren hier noch die Arbeiten von Jarach (1932) und Carbone und Kalajew (1933). Jarach fand im Filtrat der Nährlösung von *Botrytis cinerea* einen thermolabilen Stoff, der auf den Pilz hemmend wirkte. Er wollte damit beweisen, daß seine positiven Ergebnisse mit der Vakzination von Bohnen nicht durch die Aufnahme eines solchen Stoffes bedingt seien, sondern eine Lebensäußerung der behandelten Pflanzen darstellen. Er tötete zu diesem Zwecke die Pflanzen sorgfältig mit Äther und Chloroform. Die Blätter der Bohnen wurden dann vom Pilz durchwuchert wie die Kontrollen. Durch den Tod treten aber in den Zellen chemisch-physikalische Veränderungen

¹⁾ Zit. nach Baldacci 1936.

Tabelle 5
Sensibilisierung von Pflanzen durch Extrakte des Erregers

Autor	Wirt	Erreger	Methode	Ergebnis
Arata, M. 1935	Bohne	<i>Botrytis cinerea</i>	Nicht näher beschrieben	Behandelte Pflanzen erkrankten viel weniger als die Kontrollen
Baldacci, E. 1937	Weizen	<i>Helmintho- sporium sativum</i>	Wiederholung der Experiments von Zoja 1924	Behandelte Pflanzen erkrankten wie die Kontrollen
	Reis	<i>Helm. ory- zae</i>		
Leemann, A.C. 1932	<i>Triticum vulgare</i>	<i>Helmintho- sporium sativum</i>	Myzel und Nährboden mit Wasser versetzt und zu 47 °C gestellt (4 Tage). Körner 21 Std. im Extrakt	Pflanzen aus behandelten Körnern blieben gesund
Sieden, F. u. Triesch- mann, A. 1926 ¹⁾	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Synchy- trium endo- bioticum</i>	Extrakt aus kranken Knollen filtriert und als Vakzine ins Innere von gesunden Knollen gebracht	Bei der Ernte waren die behandelten Knollen fast frei von Wucherungen
Tehon, L. R. 1944	Ulme	<i>Verticill- lum albo- atrum</i>	Myzel mit Quarz zerstoßen und mit Wasser extrahiert	Ulmen erkrankten nicht mehr
Zoja, A. 1924	<i>Triticum vulgare</i>	<i>Helmintho- sporium sativum</i>	Myzel mit Quarz zerstoßen. Extrakt mit Aq. dest. Keimung d. Körner auf dem Extrakt	Behandelte Pflanzen erkrankten nicht

auf, die, wenn sie im einzelnen auch unbekannt sind, doch Hemmungsstoffe blockieren könnten. Der Beweis ist demnach nicht schlüssig. Carbone und Kalajew (1933), Arnaudi (1933), Baldacci (1937), Zoja (1924) u. a. beobachteten, daß die Pflanzen in ihrer Entwicklung durch Stoffwechselprodukte der Parasiten gehemmt werden.

Carbone und Kalajew (1933) und Baldacci (1937) versuchten mit verschiedenen Giften (Purin, Theobromin, Schwefelsäure, benzoësaurem Kalium und salizylsaurem Kalium) die Pflanzen zu schädigen und infizierten sie dann: die Krankheitsanfälligkeit war größer als bei den Versuchsreihen, die mit Kulturfiltrat behandelt worden waren.

Ohne indessen auf gesicherte Grundlagen in der pflanzlichen Immunitätsforschung abstellen zu können, werden in den Originalarbeiten eine Menge von Detailfragen diskutiert, anaphylaktische Schockreaktionen beschrieben, wie sie aus der Humanmedizin bekannt sind und Vergleiche über die Reaktionsgrenzen und -möglichkeiten im Tier- und Pflanzenreich gezogen.

Die unmittelbare Antigenwirkung durch den lebenden Parasiten ist experimentell einwandfrei bewiesen. Bernard (1911) fand,

¹⁾ Zit. nach Baldacci 1936.

daß die Wurzeln von *Loroglossum hircinum* (L.) Rich. von einem Pilz aus der Gruppe der *Rhizoctonia repens* befallen werden. In den Knollen vermag er sich meist nicht festzusetzen. Werden nun Stücke von Knollen in genügender Größe unter sterilen Bedingungen auf Agar gebracht und wird der Pilz in nicht zu kleiner Entfernung davon hinzugeimpft, so vermag der Pilz nicht bis zur Knolle zu wachsen; es bildet sich um dieselbe ein Hof, der durch das Hinausdiffundieren fungizider Stoffe aus der Knolle verursacht wird.

Es gelang zu beweisen, daß diese fungiziden Stoffe im Gewebe nur gebildet werden als Antwort auf die vom Pilz herandiffundierenden Stoffwechselprodukte: echte antiinfektionelle Abwehrreaktion.

Die Versuche wurden von Nobécourt (1928) wiederholt und bestätigt. Zu denselben Ergebnissen gelangten auch Gäumann und Jaag (1945), die überdies mit *Orchis Morio* L. und *Orchis militaris* L. arbeiteten.

4. Kapitel Eigene Untersuchungen

A. Allgemeines

Die Ergebnisse von Zojja (1925) und Leemann (1932) sind rein empirisch gefunden. Entsprechend mußten die Bedingungen bei der Reproduktion der Versuche möglichst genau eingehalten werden. Die beiden Autoren haben es jedoch unterlassen, die Sorte oder Sortengruppe innerhalb der Art *Triticum vulgare* Vill. anzugeben. Eine weitere Schwierigkeit, vergleichbare Resultate zu erzielen, bot der Parasit *Helminthosporium sativum* Pammel, King and Bakke: Seine Konidien sind mehrzellig und die Kerne genetisch meist nicht gleichwertig. Folglich ist auch eine Einsporkultur kein Ausgangspunkt für eine reine Linie, sondern für eine Population. Sie läßt spontan durch Segregation und Kernmischung Neubildungen entstehen, die sich in den parasitischen Fähigkeiten und auch auf synthetischen Medien verschieden verhalten können. Saltanten vom Sektorial- und Inseltypus wurden von Christensen (1922, 1926) und vom Verfasser häufig beobachtet. Sie wurden, soweit sie morphologisch festgestellt werden konnten, nicht in die Versuche einbezogen.

B. Vorversuche

1. Die Krankheitsanfälligkeit verschiedener Weizen- und Gerstensorten für *Helminthosporium sativum*

Weizen und Gerste werden von der Streifenkrankheit befallen; es wurden deshalb von beiden Getreidearten verschiedene Sorten auf ihre Eignung für die Untersuchungen geprüft.

Die Versuchsanordnung war folgende:

In Glasdosen mit Deckel von 12 cm Durchmesser und 6 cm Höhe wurden auf Filterpapier, das mit Brunnenwasser befeuchtet war, je 20 Körner zum Keimen gebracht. Die Schalen befanden sich in einem Raum ohne Tageslicht; die Pflanzen wurden mit einer 500-Watt-Lampe aus 3 m Distanz beleuchtet. Die Temperatur konnte konstant gehalten werden ($22 \pm 0,5^\circ\text{C}$).
4*

Nachdem die Keimlinge eine Höhe von 8—10 cm erreicht hatten und sich das erste Blatt entrollte, wurden die Blätter sorgfältig abgewischt, damit die Wachsschicht das Haften der Sporensuspension nicht hindern konnte. Infiziert wurden die Pflanzen mit einer Sporensuspension, die durch einen Zerstäuber auf die Blätter gebracht wurde. 1 cm³ Brunnenwasser enthielt etwa 2,10⁵ Konidiosporen. Nach der Infektion wurden die Pflanzen für die Dauer von 48 Stunden unter Glasglocken gestellt, damit die für die Infektion notwendige Feuchtigkeit gesichert war. Es erwies sich als günstig, während dieser Zeit die Beleuchtung auszuschalten. 6—8 Tage nach der Infektion waren die Krankheitsmerkmale schon so deutlich, daß die Versuche ausgewertet werden konnten: Zählen der länglichen hell- bis dunkelbraunen Flecken auf den Blättern und statistische Bearbeitung des Zahlenmaterials (Tab. 6).

Tabelle 6
Anfälligkeit verschiedener Weizen- und Gerstensorten für *Helminthosporium sativum*

Sorte	Zahl der Versuchspflanzen	Durchschnitt der Fleckenzahlen aller infizierten Pflanzen	Eignung für das Gewächshausklima
Weizen			
Sommerweizen:			
Huron	110	12,3	3
Wagenburger . . .	98	10,2	2
Winterweizen:			
Plantahof	126	14,0	1
Rothenbrunner . . .	115	11,3	2
Strickhof	138	16,8	2
Alpha	93	21,2	2
Mont Calme 22 . .	104	14,9	2
Mont Calme 268 . .	107	7,6	2
Gerste			
Wintergerste:			
Riniker	111	18,3	5
Strickhof	122	24,8	5
Bäckerkinden	113	12,1	4
Argovia	108	15,5	4

Tabelle 6 zeigt, daß die Krankheitsanfälligkeit der verschiedenen Weizen- und Gerstensorten unter Laboratoriumsbedingungen innerhalb recht enger Grenzen schwankt. Sehr verschieden verhalten sich Weizen und Gerste gegenüber dem Gewächshausklima (22,5°C und 100% rel. Feuchtigkeit während der Infektion). Durch eine Notenskala von 1—5 wurden diese Eigenschaften zahlenmäßig erfaßt:

- 5: Pflanzen kräftig, sattgrün,
- 4: Pflanzen kräftig, leicht hellgrün,
- 3: Pflanzen kräftig, leicht hellgrün, Blattspitzen gelb
- 2: Pflanzen wenig turgeszent, bleichgrün, Blattspitzen gelb
- 1: Pflanzen fallen um, gelbgrün, Blattspitzen gelb

Die Gerstensorten ertragen das Gewächshausklima sehr gut, während die Weizensorten stark darunter leiden.

Die Wachstumsunterschiede zwischen den Sorten waren unbedeutend.

Auf Grund dieser Ergebnisse wurden Huron-Weizen und Riniker-Gerste für die Versuche ausgewählt.

2. Der Krankheitserreger

Der Pilz *Helminthosporium sativum* Pammel, King et Bakke wurde der Mykothek des Institutes entnommen und auf die im folgenden Abschnitt zu besprechenden Nährsubstrate abgeimpft.

3. Die verwendeten Nährböden und Nährösungen

1. Reis-Agar:

50 g gemahlener Reis wurden mit 1000 cm³ Aq. dest. vermischt und während 2 Stunden unter häufigem Umrühren auf 60° C erwärmt. Dann wurde heiß durch ein Faltenfilter filtriert und 2% Agar zugegeben.

2. Gersten-Agar: } 3. Hafer-Agar: } Herstellung wie unter 1.

Auf 2 und 3 war die Sporenbildung gut. (Sporensuspensionen für Infektionen).

4. Agar nach Leemann (1932)

Laktose	10,0 g	MgSO ₄	1,0 g
Galaktose	10,0 g	FeSO ₄	3 mg
Maltose	10,0 g	Agar	20,0 g
Asparagin	0,5 g	Bodenextrakt	20,0 g
Glykokoll	0,5 g	Aq. dest.	1000,0 g
KH ₂ PO ₄	2,0 g		

5. Richard - Nährlösung (modifiziert)

Zucker	30,0 g	MgSO ₄	2,5 g
(NH ₄)NO ₃	10,0 g	Aq. dest.	1000,0 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g		

6. Knop

Zucker	30,0 g	KH ₂ PO ₄	0,25 g
Ca(NO ₃) ₂	1,0 g	FeCl ₂ 1 prozent. .	1 Tropfen
MgSO ₄	0,25 g	Aq. dest.	1000 g
KC1	0,25 g		

7. Czapek nach Thom (1926) und modifiziert

Zucker	30,0 g	NaNO ₃	1,0 g
K ₂ HPO ₄	1,0 g	MgSO ₄	0,5 g
KC1	0,5 g	Aq. dest.	1000,0 g

8. Hayduk nach Thom (1930)

Zucker	10,0 g	MgSO ₄	0,3 g
Asparagin	0,8 g	Aq. dest.	1000,0 g
K ₂ HPO ₄	1,0 g		

C. Versuche mit Extrakten aus Nährböden und Myzel

1. Wiederholung der Versuche von Zojia und Leemann

In 500-cm³-Erlenmeyer-Kolben wurden je 150 cm³ Reis-Agar oder Agar nach Leemann abgefüllt und im Autoklaven bei 120° C während 20 Minuten

sterilisiert. Nachdem die Nährböden mit *Helminthosporium sativum* beimpft waren, wurden sie für die Dauer von 4 Wochen bei einer Temperatur von $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$ aufgestellt (Optimaltemp. für den Pilz). Das Pilzwachstum war gut: nach 14 Tagen waren alle Nährböden mit Myzel vollständig überdeckt. Die Sporenbildung war gering.

Nach 4 Wochen wurden die Kulturen auf Reis-Agar aus den Kolben genommen und in einem großen Mörser mit Kieselgur fein zerstoßen. Die zugegebene Menge Aq. dest. betrug 20% des Myzel- und Substratgewichtes. Nach 24 stündigem Stehen im Kühlraum bei $+3^\circ\text{C}$ wurde die Masse in Glasdosen verteilt und mit Filterpapier zugedeckt. Darauf wurden Körner von Weizen und Gerste ausgesät, die vorher entspelzt und 10 Minuten in 1%iger Sublimatlösung sterilisiert werden waren.

Bei den Versuchen nach Leemann wurde je Kolben 50 cm³ Aq. dest. beigegeben. Die Kolben wurden während 4 Tagen bei $47 \pm 0,2^\circ\text{C}$ in einem Thermostaten aufgestellt und täglich zweimal geschüttelt. Die Behandlung der Körner erfolgte nach den auf Seite 42 mitgeteilten Vorschriften. Die behandelten Körner wurden in Glasschalen auf Filterpapier ausgesät, das mit Brunnenwasser befeuchtet war. Als Kontrollen wurden je 150 Körner von Weizen und Gerste auf mit Brunnenwasser befeuchtetem Filterpapier zum Keimen gebracht.

Alle Versuchsreihen befanden sich unter Bedingungen, wie sie bei den Vorversuchen Seite 51 beschrieben sind.

Beobachtungen bei der Keimung und Entwicklung der Pflanzen: Auf Reis-Agar keimten nur 55—60% der Körner. Die Wurzelspitzen waren braun und meist berührten die Wurzeln nur mit der Spitze das Substrat; Wurzelhaare fehlten oder waren nur kümmerlich entwickelt. Die Pflanzen wuchsen sehr langsam; sie brauchten mehr als das Doppelte an Zeit, um dieselbe Höhe zu erreichen wie die Kontrollen.

In der Versuchsreihe nach Leemann hatten am 3. Tage 85% der Körner gekeimt. Anfänglich waren die Keimlinge gegenüber den Kontrollen etwas gehemmt, doch verschwand der Unterschied bald.

Nach 3 Tagen hatten bei den Kontrollen 98% der Körner gekeimt; sie bildeten kräftige, weiße, mit Wurzelhaaren umgebene Wurzeln, die, eng an das Filterpapier angeschmiegt, sich schnell wachsend ausbreiteten. Bald erschien auch die Koleoptile, und nach 10—12 Tagen waren die Pflanzen 8—10 cm hoch.

Wenn durch statistische Auswertung der Fleckenzahl je Pflanze vergleichbare Resultate erzielt werden sollen, so setzt dies voraus, daß Versuchsreihen und Kontrollen gleichzeitig in genau gleicher Entwicklung infiziert werden; denn nur dann ist die Wahrscheinlichkeit, von einer bestimmten Zahl Sporen getroffen zu werden, für alle Pflanzen dieselbe. Nur kleine Abweichungen in der Entrollung der Blätter vermochten, wie in Nebenversuchen festgestellt wurde, die Ergebnisse schon wesentlich zu stören. Die Forderung nach gleicher Entwicklung der Pflanzen zur Zeit der Infektion wurde erfüllt, indem die Kontrollen später ausgesät wurden als die Versuchsreihen, oder dadurch, daß die Kontrollpflanzen einige Zeit in den Kühlraum ($+3^\circ\text{C}$) gebracht wurden.

Die Infektion erfolgte nach der Methode, wie sie im einzelnen bei den Vorversuchen Seite 52 beschrieben ist.

Die Fleckenzählungen wurden nach den Formeln der Statistik (Linder 1945) ausgewertet:

Berechnung des Durchschnittes: \bar{X}

$$\bar{X} = D + \frac{1}{N} \sum_{j=1}^M f_j (x_j - D)$$

Berechnung der Streuung: s^2

$$s^2 = \frac{1}{N-1} \left[\sum_{j=1}^M f_j (x_j - D)^2 - (\bar{X} - D) \sum_{j=1}^M f_j (x_j - D) \right]$$

$$s_d^2 = \frac{1}{N_1 + N_2 - 2} \left[\sum_{i=1}^{N_1} f'_i (x'_i - D')^2 - (\bar{X}' - D') \sum_{i=1}^{N_1} f'_i (x'_i - D') \right] \\ + \left[\sum_{i=1}^{N_2} f''_i (x''_i - D'')^2 - (\bar{X}'' - D'') \sum_{i=1}^{N_2} f''_i (x''_i - D'') \right]$$

Unterschied zweier Durchschnitte: t

$$t = \frac{\bar{X}' - \bar{X}''}{s_d} \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}}$$

Legende:

\bar{X} = Durchschnitt der Fleckenzahlen aller infizierten Pflanzen

s^2 = Streuung

t = Unterschied zweier Durchschnitte

D = vorläufiger Durchschnitt

N = Gesamtzahl der Einzelwerte

x_j = einzelner Wert

f_j = Häufigkeit des einzelnen Wertes

S = Summe

Ansatz und Gang der Rechnung seien hier in einem Beispiel erläutert:

Die Versuchsreihe nach Leemann umfaßte 110 Pflanzen; die Fleckenzahl jeder Pflanze wurde einzeln notiert und in Tabelle 7 eingesetzt und ausgewertet (siehe S. 56).

Bei der Berechnung der Resultate wurde angenommen, daß es sich bei den Auszählungen um kleine statistische Stichproben handle, die sich in der Verteilung der Durchschnitte normal, d. h. wie eine Gauß- oder Laplacesche Verteilung verhalten. Diese Einschränkung darf nach Linder (1945) ohne große Nachteile gemacht werden. Eine weitere Voraussetzung ist, daß bei 1% bzw. 5% der Stichproben rein zufällig wesentliche Abweichungen von der Grundgesamtheit auftreten können. Deshalb werden die Sicherheitsschwellen an der Verteilungskurve so angelegt, daß auf jeder Seite der Kurve symmetrisch 1/2% bzw. 2 1/2% der Kurvenfläche abgeschnitten werden. Die Abweichungen werden nur innerhalb der engeren Sicherheitsschwelle als zufällig betrachtet.

Die Tafel über die t-Verteilung (Linder 1945) zeigt, daß $t = 9,7$ ($\bar{X}'' - \bar{X}'$) für $n = 232$ weit außerhalb der Sicherheitsschwelle liegt. Der Unter-

Tabelle 7

Ansatz zur Berechnung der durchschnittlichen Fleckenzahl (\bar{X}) und der Streuung (s^2)

Fleckenzahl je Pflanze $= x_j$	Häufigkeit f_j	$x_j - D$	$f_j(x_j - D)$	$f_j(x_j - D)^2$	
0	2	-10	-20	200	
1	2	-9	-18	162	
2	8	-8	-64	512	
3	9	-7	-63	441	$\bar{X} = 10 - \frac{1}{110} \times 40 = 9,5$
4	6	-6	-36	216	
5	5	-5	-25	125	
6	7	-4	-28	112	$s^2 = \frac{1}{109} (4290 + 0,46 [-40])$
7	5	-3	-15	45	
8	7	-2	-14	28	$s^2 = 39,2$
9	8	-1	-8	8	
D = 10	8	0	-291		
11	7	1	7	7	
12	5	2	10	20	
13	5	3	15	45	
14	5	4	20	80	
15	5	5	25	125	
16	2	6	12	72	
17	2	7	14	98	
18	3	8	24	192	
19	2	9	18	162	
20	0	10	0	0	
21	0	11	0	0	
22	1	12	12	144	
23	2	13	26	338	
24	0	14	0	0	
25	0	15	0	0	
26	1	16	16	256	
27	2	17	34	578	
28	1	18	18	324	
	110		+ 251	4290	
			- 291		
			- 40		

Tabelle 8 zeigt den Versuch ausgewertet.

Tabelle 8

Infektion von Weizen mit *Helminthosporium*. Auswertung der Versuche nach Leemann und Zoja

Nr.	Versuchsmethode	N	\bar{X}	s^2	t
1	Leemann . . .	110	$\bar{X}' = 9,5$	39,2	$\bar{X}''' - \bar{X}' = 1,8$
2	Zoja . . .	98	$\bar{X}'' = 4,3$	5,1	
3	Kontrolle . . .	136	$\bar{X}''' = 10,6$	37,8	$\bar{X}''' - \bar{X}'' = 9,7$

schied der beiden Durchschnitte ist sehr gut gesichert: die nach Zoja behandelten Pflanzen waren weniger anfällig als die Kontrollen.

Bei der Betrachtung von $\bar{X}''' - \bar{X}'$ ($n = 232$; $t = 1,8$) sehen wir, daß die Abweichung nur zufällig ist: Die Methode nach Leemann hatte keinen gesicherten Einfluß auf die Anfälligkeit der Pflanzen.

Die Wiederholung der Versuche gab folgende Resultate (Tabelle 9): Alle drei Versuchsreihen bestätigen die Ergebnisse in Tabelle 8. In der Versuchsanordnung wurde einzig das Alter der Pilzkulturen variiert, was ohne Einfluß auf die Resultate blieb.

Tabelle 9

Einfluß des Alters der Pilzkulturen bei der Infektion von Weizen mit *Helminthosporium*. Auswertung der Versuche nach Zoja und Leemann

Methode	Alter der Kultur in Wochen	N	\bar{X}	s^2	$\bar{X}''' - \bar{X}'$	t	Interpretation
Leemann.	3	118	\bar{X}' 24,2	112,2	$\bar{X}''' - \bar{X}'$ 0,01		Abweichung zufällig
Zoja . . .	3	105	\bar{X}'' 4,2	3,0	$\bar{X}''' - \bar{X}''$ 17,2		Unterschied sehr gut gesichert
Kontrolle .		132	\bar{X}''' 22,9	118,6			
Leemann.	4	140	\bar{X}' 16,8	67,3	$\bar{X}''' - \bar{X}'$ 0,01		Abweichung zufällig
Zoja . . .	4	123	\bar{X}'' 6,3	6,1	$\bar{X}''' - \bar{X}''$ 14,9		Unterschied sehr gut gesichert
Kontrolle .		151	\bar{X}''' 17,5	64,7			
Leemann.	6	124	\bar{X}' 14,1	57,2	$\bar{X}''' - \bar{X}'$ 0,9		Abweichung zufällig
Zoja . . .	6	116	\bar{X}'' 5,2	7,1	$\bar{X}''' - \bar{X}''$ 12,3		Unterschied sehr gut gesichert
Kontrolle .		112	\bar{X}''' 15,0	59,3			

Zusammenfassend läßt sich über die Wiederholung der Experimente von Zoja und Leemann folgendes sagen:

1. Durch die Versuchsanordnung nach Zoja wurden die Pflanzen stark geschädigt.
2. Die statistische Auswertung der Fleckenzahlen je Pflanze zeigte, daß in diesen Versuchen die Abweichungen gegenüber den Kontrollen sehr gut gesichert sind.
3. Die Behandlung der Körner nach Leemann schädigte die Entwicklung der Pflanzen nur anfangs merklich.
4. Die Anwendung der Statistik ergab eindeutig, daß die Fleckenzahlen dieser Versuchsreihen nur zufällig von denen der Kontrollen abwichen; der Verfasser konnte die Ergebnisse von Leemann also nicht bestätigen.

Obwohl die Versuche nach den Angaben von Zoja positiv ausfielen, darf noch nicht ohne weiteres auf eine Sensibilisierung des Wirtes durch Extrakte des Parasiten geschlossen werden; denn die Pflanzen waren durch den Extrakt dermaßen geschädigt worden, daß vielleicht dadurch die Reak-

tionslage verändert war. Um vergleichbare Resultate zu erzielen, hätte Z o j a die Kontrollen durch konzentrierte reine Nährösungen derart hemmen sollen, daß ihre Entwicklung mit denen der Versuchspflanzen möglichst übereinstimmte. Die wachstumshemmende Wirkung auf Keimlinge durch Extrakte von *Helminthosporium sativum* wird auch von Ty ner und Broadfoot (1943) angegeben.

Um den Einfluß von verschiedenen starken Wachstumshemmungen auf die Krankheitsanfälligkeit von Riniker-Gerste und Huron-Weizen gegenüber der Streifenkrankheit studieren zu können, wurde ein Modellversuch mit K n o p - Nährösung verschiedener Konzentration (ohne Zucker) angestellt.

In Abbildung (1) ist die auf Seite 53 angegebene Konzentration der K n o p - Nährösung mit 1 bezeichnet.

Die Entwicklung der Versuchspflanzen in den verschiedenen Reihen war sehr unterschiedlich: die Pflanzen auf Nährösung von der Konzentration 2 zeigten ähnliche Schädigungen wie die Pflanzen in früheren Versuchen, die mit Extrakt behandelt wurden. Bei der Konzentration 1 konnte bereits nicht mehr von einer Schädigung gesprochen werden, lediglich das Streckungswachstum war langsamer als bei niedrigeren Konzentrationen. Jede Durchschnittszahl wurde aus 150 bis 180 Pflanzen berechnet.

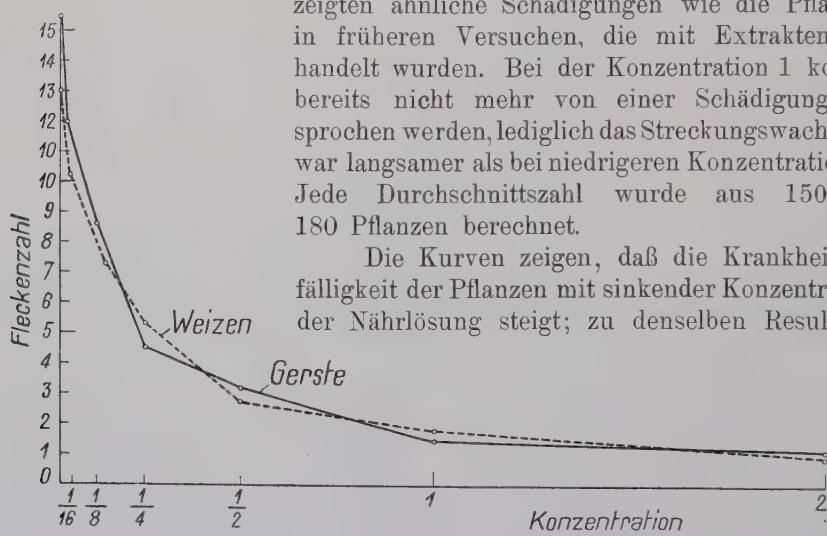


Abb. 1

Die Zahl der Flecken je Pflanze als Funktion der Konzentration der Nährösung

kamen auch Broadfoot und Ty ner (1938). Dieses Resultat überrascht nicht; denn es gilt bei parabiontischen Erregern als Regel, daß eine herabgesetzte Vitalität der Wirte zu Befallsfreiheit führt (G ä u m a n n 1946). Als Parallele seien hier die Rostkrankheiten erwähnt. Allein mit der reduzierten Vitalität als Ursache einer Ernährungsschädigung läßt sich aber unser Ergebnis nicht erklären: die Fleckenzahl je Pflanze nimmt gerade auf noch wenig konzentrierten Nährösungen, wenn noch keine Schädigungen durch dieselben feststellbar sind, stark ab.

Die Fleckenzahl ist am höchsten bei den Pflanzen auf destilliertem Wasser (Konz. O).

Es ist denkbar, daß bei den Pflanzen, die durch die Konzentration der Nährösung im Wachstum gehemmt waren, die Eindringungs- und Ausbreitungs-

resistenz aus folgenden Gründen verändert worden sind: Die sich streckenden Meristemzellen der keimenden Pflanzen besitzen nach Frey-Wyssling (1938, 1948) Röhrentextur. An den Stellen, wo sich die Zellulosemicelle überkreuzen, befinden sich Haftpunkte von bestimmter Festigkeit. Beim Streckungswachstum müssen diese Haftpunkte gelöst werden, was durch Wuchsstoffe auf dem Umwege über das Plasma geschieht. Die Festigkeit der Haftpunkte hängt vom Hydratationsgrad der OH-Gruppen ab. Durch Hydratation werden solche Haftpunkte gelockert, durch Dehydratation gefestigt. Es gelang Wuhrmann (1937) zu zeigen, daß die Entquellung der Membranen nach Maßgabe des Hydratationszustandes der verwendeten Ionen als beschränkender Faktor des Streckungswachstums auftritt.

Für die Pflanzenpathologie kann daraus gefolgert werden, daß die Zellwände von Pflanzen, die durch Nährösungen in ihrem Wachstume gehemmt wurden (Ionenwirkung), ein stabileres Zellulosegerüst aufweisen, dessen Auflösung oder Verquellung höhere Anforderungen an die enzymatischen Fähigkeiten des Parasiten stellt.

Wäre die Krankheitsanfälligkeit in unserem Versuche nur eine Funktion einer physiologischen Schädigung, so müßte die Fleckenzahl bei den Konzentrationen < 1 einen konstanten Wert annehmen. Da dies nicht der Fall ist, muß bei den Untersuchungen auch eine ernährungsphysiologische Verschiebung der Krankheitsbereitschaft vorhanden sein. Nach Gäumann (1946) wirken sich sämtliche Faktoren, die die Krankheitsbereitschaft der Wirtspflanze verschieben, über die Vitalität des Wirtsorganismus aus.

Aus dem Gewirr von Ursache und Wirkung in einer solchen Reaktion konnten nur drei Dinge messend und beobachtend verfolgt werden:

1. das Nährsubstrat als variabler Umweltfaktor,
2. die herabgesetzte Vitalität und
3. die verschiedene Krankheitsdisposition.

Was zwischen Ursache und Wirkung liegt, entzog sich meiner Versuchstechnik.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Behandlung von Weizen und Gerste mit reiner Knop-Nährösung verschiedener Konzentration ergab dieselben Resultate wie die Wiederholung der Versuche nach Zoja: In der Vitalität herabgesetzte Pflanzen, gleichgültig ob durch Nährösung oder Myzelextrakt, zeigten eine viel geringere Krankheitsanfälligkeit als die Kontrollen auf destilliertem Wasser — Verschiebung der Krankheitsbereitschaft mit unspezifischen Mitteln.

Die von Zoja aufgestellte Behauptung, die Pflanzen seien durch Stoffwechselprodukte des Pilzes immunisiert worden, ist durch diese Tatsachen noch nicht widerlegt; sie ist damit bloß in Frage gestellt. Der Einwand, die herabgesetzte Krankheitsbereitschaft beruhe im Versuche mit den reinen Nährösungen auf einer Ionenwirkung, während sie bei den Experimenten mit Myzel-Extrakt eine echte Antigenwirkung darstelle, kann nicht abgelehnt werden, bevor es möglich ist, die Reaktionsketten kausal zu verfolgen.

Die Methode von Zoja ist zu weiteren Untersuchungen ungeeignet, weil sie mit Extrakten von Myzel und festen Nährböden arbeitet, die chemisch nie erfaßbar sind. Aus diesem Grunde wurden die Kulturen auf flüssigen Nährböden angelegt, die keine unbekannten Substanzen in meßbaren Mengen enthielten (Verwendung reinster Chemikalien), und an Stelle von Myzel wurde die Nährlösung aufgearbeitet und auf Antigenwirkung geprüft, nachdem der Pilz eine bestimmte Zeit darauf gewachsen war.

Diese Untersuchungen werden im folgenden Abschnitt behandelt.

D. Versuche mit Kulturfiltrat

a) Vorversuche

Als Nährösungen wurden verwendet (Seite 53):

Richard

Czapek

Hayduk

Je 150 cm^3 Nährlösung wurden in 500-cm^3 -Erlenmeyer-Kolben abgefüllt und diese bei 120°C im Autoklaven während 20 Minuten sterilisiert. Die beimpften Kolben standen während 3, 6 und 12 Wochen bei einer Temperatur von $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Mit dem Seitz-Bakterienfilter wurden nach diesen Zeiträumen die Nährösungen steril filtriert und im Kühlraum bei $+2^\circ\text{C}$ aufbewahrt. Die Kontrollen keimten nicht mehr auf Aq. dest., sondern auf den entsprechenden reinen Nährösungen. Als Wirtspflanze wurde nur noch Riniker-Gerste verwendet. Tabelle 10 gibt einen Überblick über die Vorversuche.

T a b e l l e 10

Die Wirkung von Kulturfiltraten verschiedenem Alters auf die Krankheitsbereitschaft der Pflanzen (Gerste)

Kulturfiltrat	N	\bar{X}	s^2	Reine Nährlösungen (Kontrollen)	N	\bar{X}	s^2	t	Interpretation
3 Wochen alte Kulturen:									
Richard	135	5,4	12,9	Richard	148	16,5	98,9	12,3	Untersch. gesichert
Czapek	148	4,1	9,2	Czapek	161	17,8	105,5	15,7	Untersch. gesichert
Hayduk	122	1,1	1,6	Hayduk	153	15,3	102,3	15,4	Untersch. gesichert
6 Wochen alte Kulturen:									
Richard	123	19,5	112,2	Richard	120	19,3	115,0	0,15	Untersch. gesichert
Czapek	128	17,7	103,1	Czapek	131	18,5	110,1	0,63	Untersch. gesichert
Hayduk	116	18,1	114,6	Hayduk	126	18,7	108,0	0,45	Untersch. gesichert
12 Wochen alte Kulturen:									
Richard	145	12,6	70,8	Richard	150	13,9	85,0	1,26	Untersch. zufällig
Czapek	138	13,4	81,2	Czapek	146	12,8	76,2	0,57	Untersch. zufällig
Hayduk	143	11,3	83,1	Hayduk	147	11,9	64,6	0,59	Untersch. zufällig

Die Pflanzen, die auf 3 Wochen altem Kulturfiltrat keimten, waren stark gehemmt; das Bild der Schädigungen entsprach demjenigen, wie es bei den Versuchen nach Zoja beschrieben ist. Am meisten litten die Pflanzen auf Hayduk-Kulturfiltrat. Die Unterschiede der Fleckenzahlen in diesen

Versuchsreihen sind gegenüber den Kontrollen sehr bedeutend und t liegt weit außerhalb der Sicherheitsschwelle. Auch hier fallen die Versuche mit Hayduk-Kulturfiltrat wegen der großen Differenz der Fleckenzahlen im Vergleich mit den Kontrollen auf.

Das Entwicklungstempo der Versuchspflanzen, die auf 6 und 12 Wochen altem Kulturfiltrat keimten, stimmte mit dem der Kontrollen gut überein. Das Kulturfiltrat vermochte auch keinen Einfluß auf die Krankheitsbereitschaft der Pflanzen auszuüben: die Abweichungen in den Fleckenzahlen sind nur zufällig.

Aus diesen Untersuchungen lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. In den Kulturfiltraten sind Stoffwechselprodukte des Pilzes enthalten, welche die Entwicklung der Pflanzen zu schädigen vermögen.
Besonders deutlich sind diese Erscheinungen bei Hayduk-Kulturfiltrat (einige Nährlösung, die N in organischer Form enthält).
2. Die wirksamen Stoffwechselprodukte haben ephemeren Charakter: sie sind nur in Filtraten relativ junger Kulturen (3 Wochen) nachweisbar. Diese Substanzen werden offenbar nur während der Zeit des intensivsten Myzelwachstums gebildet, d. h., bis die Fläche der Nährlösung vollständig bedeckt ist, und werden dann durch unbekannte Prozesse inaktiviert.

b) Untersuchungen mit Hayduk-Kulturfiltrat

1. Über die Stabilität toxischer Substanzen im Kulturfiltrat

Eine Serie von Versuchen hatte den Zweck, die Stabilität der auf die Pflanzen toxisch wirkenden Substanzen des Kulturfiltrates zu prüfen: ihre Empfindlichkeit gegenüber Hitze und Änderung des pH (pH des Kulturfiltrates 7,2; gemessen mit Macbeth-pH-Meter, Glaselektrode, 18°C).

Versuchsanordnung: Der Versuch umfaßte 5 Reihen:

1. Reihe: Kulturfiltrat (KF) 1 Min. gekocht
2. " KF; pH 7,2 $\xrightarrow{ }$ 2,2
3. " KF; pH 7,2 $\xleftarrow{ }$ 9,5
4. " KF; nicht behandelt
5. " Reine Hayduk-Nährlösung als Kontrolle.

Erklärungen zu den Versuchsreihen:

1. Aufkochen von 100 cm³ Hayduk-Kulturfiltrat während 1 Min.: Trübung der Lösung, flockiger Niederschlag.
2. Einstellen des pH auf 2,2 während 2 Stunden mit $\frac{n}{1}$ HCl (2,6 cm³). Temperatur 22,5°C. Zurücktitrieren auf pH 7,2 mit $\frac{n}{1}$ NaOH (2,6 cm³). Menge: 100 cm³. Keine Farbveränderung oder Niederschlagsbildung.
3. Einstellen des pH auf 9,5 mit $\frac{n}{1}$ NaOH (0,9 cm³). Nach 2 Stunden zurücktitrieren auf pH 7,2 mit $\frac{n}{1}$ HCl (0,9 cm³). Menge: 100 cm³. Keine Farbveränderung oder Niederschlagsbildung.

Die durch die pH-Änderungen bedingten Zugaben von Na^+ und Cl' wurden in den andern Reihen mit äquivalenten Mengen NaCl kompensiert:

2. Reihe: 91 mg $\text{Cl}' + 59 \text{ mg } \text{Na}^+$ zugegeben; entspricht 150 mg NaCl
 3. " 51 mg $\text{Cl}' + 33 \text{ mg } \text{Na}^+$ " " 84 mg NaCl

Als NaCl mußten 66 mg zugesetzt werden.

1., 4. und 5. Reihe: Zugaben von 150 mg NaCl.

Die Verdünnungen infolge der Titration wurden vernachlässigt.

Wie üblich wurden je Schale 20—25 Körner ausgesät, und das Filterpapier wurde mit 2 cm³ Lösung befeuchtet.

Die Entwicklung der Pflanzen: Wiederum starke Hemmung der Pflanzen auf Kulturfiltrat; diejenigen auf gekochtem Kulturfiltrat wiesen gleiche Wachstumsgeschwindigkeit auf wie die Kontrollen. Die Versuchsreihen auf Kulturfiltrat, dessen pH verändert wurde, standen in der Entwicklung zwischen den Kontrollen und denen auf unbehandeltem Kulturfiltrat.

Über die Verschiebung der Krankheitsbereitschaft in diesen Versuchen gibt Tabelle 11 Auskunft.

T a b e l l e 11

Die Wirkung von verschiedenen behandelten Kulturfiltraten auf die Krankheitsbereitschaft der Pflanzen

Versuchsreihe	N	\bar{X}	s^2	t	Interpretation
KF 1 Min. gekocht	162	23,2	132,6	0,65	Abweichung zufällig
KF pH 7,2 \rightarrow 2,2	154	18,3	123,9	3,32	Abweichung an der Grenze der Sicherheitsschwelle
KF pH 7,2 \rightarrow 9,5	157	19,8	110,5	2,17	Abweichung an der Grenze der Sicherheitsschwelle
KF nicht behandelt	135	6,7	40,2	5,2	Abweichung gesichert
Kontrolle	175	22,4	126,1		

Die Pflanzen auf gekochtem Kulturfiltrat erkrankten wie die Kontrollen.

Durch die pH-Änderungen sind die aktiven Stoffe des Kulturfiltrates geschädigt worden: Die Abweichungen der Fleckenzahlen von denen der Kontrollen liegen knapp außerhalb der Sicherheitsschwelle.

2. Über ein neues Antibiotikum gegen *Bacillus mesentericus* Flügge im Hayduk-Kulturfiltrat

Zur Bestimmung der optimalen Temperatur für das Wachstum von *Helminthosporium sativum* auf Hayduk-Nährlösung wurden Petrischalen mit Hayduk-Agar verwendet, und der Durchmesser der Pilzkolonien wurde als Maßstab genommen. Dabei drangen im Thermostaten bei 24°C Bakterien vom Rande der Schalen in die Kulturen ein und überwucherten sofort den ganzen Nährboden.

In einem Falle konnte eine große Hemmungszone um das Pilzmyzel beobachtet werden, und das gehemmte Bakterium wurde nach der Form der Kolonie als in die Gruppe des *Bacillus mesentericus* Flügge gehörend bestimmt. Der Pilz produziert also einen Stoff, ein Antibiotikum, das für *Bacillus mesentericus* toxisch wirkt. Aus der Literatur sind einige Bio-Antiseptika, meist Antrachinonderivate, von anderen Helminthosporien bekannt,

so das Helminthosporin von *Helm. gramineum* Rabenh., durch Charles, Raistrick, Robinson und Todd (1933) gefunden; weiter das Cynodontin von *Helm. cinodontis* Marig. und das Tritisporin von *Helm. tritici-vulgaris* Nisicado (Raistrick, Robinson und Todd, 1934/1933), sowie das Ravenelin von *Helm. ravenelii* Curtis (Raistrick, Robinson und White, 1936) und das Alboleersin von *Helm. leersii* Atkinson (Ashley und Raistrick, 1938).

Das Bakterium wurde abgeimpft, Verdünnungsreihen wurden hergestellt und 45 Stämme auf ihre Empfindlichkeit für das Antibiotikum geprüft.

a) Methode. Es wurden die Stämme in Reagenzgläsern auf Kartoffelbouillon vermehrt, davon auf Kartoffelagar in Petrischalen Gußkulturen hergestellt, diese während 2 Stunden im Thermostaten bei 37°C getrocknet, dann je Schale 3—4 in Kulturfiltrat getauchte Filterpapierscheibchen (8 mm Durchmesser) auf den Agar gelegt und die Schalen zu 30°C (Optimaltemperatur für *Bac. mes.*) gestellt. Nach 15 Stunden konnte das Resultat abgelesen werden. Der Durchmesser der Hemmungszonen betrug 10—16 mm. Stamm 18 war am meisten empfindlich und wurde für die weiteren Versuche allein verwendet. Es zeigte sich, daß die hemmende Wirkung des Kulturfiltrates bei der Keimung der Sporen größer ist als bei der Teilung der Stäbchen.

Um ein gleichmäßiges Wachstum auf den Platten und scharf begrenzte Hemmungszonen zu erzielen, erwies es sich als zweckmäßig, die Bakteriensuspension, bestehend aus Sporen und Stäbchen, vor dem Gießen der Platten während einer Stunde bei 60°C zu pasteurisieren und damit alle Stäbchen abzutöten.

Obwohl anzunehmen ist, daß das Kulturfiltrat eine Menge verschiedener Stoffwechselprodukte enthält, lassen sich einzelne Fragen doch besser mit dem Bakterientest untersuchen als mit der Gerste, denn er ist empfindlicher, einfacher und rascher.

b) Die Bildung toxischer Substanzen als Funktion der Zeit. Die Nährösungen von je 5 Kolben wurden periodisch alle 3 Tage, das erste Mal 8 Tage nach der Beimpfung mit dem Bakterientest auf den Gehalt an Antibiotikum geprüft.

Die Kurve in Abb. 2 zeigt, daß die Konzentration des Antibiotikums am 20. Tage am größten ist und nachher sehr rasch abnimmt. Jede Zahl ist ein Durchschnittswert aus 20 Messungen.

γ) Die Thermolabilität. Je 10 cm³ Kulturfiltrat (pH 6,8) wurden während 5 Minuten auf 50, 75 und 100°C erhitzt.

Der Test ergab folgendes: Bei der Temperatur von 75°C wurde das Antibiotikum teilweise zerstört: Breite der Hemmungszonen 11 mm (bei den



Abb. 2
Die Funktionen toxischer Substanzen als Funktion der Zeit

Kontrollen: 15 mm); bei 100°C waren keine Hemmungszonen mehr vorhanden, der Stoff war vollständig zerstört.

d) Versuche zur Isolierung des Antibiotikums. Beim Ausschütteln des Kulturfiltrates geht das Antibiotikum in den Äther über. Nach Verdampfen des Äthers bei 25°C im Vakuum lässt es sich wieder in Wasser aufnehmen. Der gelbe Farbstoff des Kulturfiltrates, der auch in den Äther übergeht, löst sich in Wasser nicht mehr.

Alle Versuche, die Substanz zu kristallisieren, blieben erfolglos.

e) Wirkung des gereinigten Antibiotikums auf die Keimung und das Wachstum der Gerste. Auf der nach den Angaben unter d gewonnenen Substanz (gleiche Konzentration wie sie im Kulturfiltrat vorhanden ist; Bestimmung der Konzentration mit dem Bakterientest) wurden Gerstenkörner ausgesät. Als Substrat für die Kontrollen diente Kulturfiltrat.

Die Entwicklung der Pflanzen auf dem gereinigten Antibiotikum war ungefähr wie die der Kontrollen: starke Hemmungen und Schädigungen. Die statistische Auswertung der Fleckenzahlen ergab keine Differenzen zwischen den beiden Versuchsreihen (Tabelle 12).

T a b e l l e 12
Wirkung des Antibiotikums auf die Krankheitsbereitschaft der Pflanzen

Nr.	Antibiotikum und Aq. dest. (gleiche Konzentration wie im Kulturfiltrat)			Kulturfiltrat (Kontrollen)			
	N	\bar{X}	s ²	N	\bar{X}	s ²	t
1	110	16,9	142,2	95	18,7	158,0	1,41
2	125	11,5	114,3	114	10,1	106,7	1,02
3	116	14,8	125,6	108	12,9	122,3	1,14

In einer anderen Versuchsanordnung wurde gereinigtes Antibiotikum verwendet, und für die Kontrolle diente das Kulturfiltrat, dem das Antibiotikum entnommen worden war: Geringe Hemmung der Pflanzen auf dem Kulturfiltrat (Fleckenzahl 13,2), starke Hemmung auf dem Antibiotikum (Fleckenzahl 5,1). Die Unterschiede der Fleckenzahlen sind gesichert.

e) Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche mit Kulturfiltrat

1. Auch in den Kulturfiltraten sind Stoffwechselprodukte des Pilzes vorhanden, die die Entwicklung der Pflanzen stark schädigen.
Eigenschaften dieser Stoffwechselprodukte:
 - a) Sie sind aus unbekannten Gründen in den Nährösungen nicht stabil; sie können, nachdem sie 20 Tage nach der Beimpfung der Kolben die höchste Konzentration erreicht haben, schon 10 Tage später nicht mehr nachgewiesen werden.
 - b) Sie sind thermolabil.
 - c) Sie sind empfindlich auf Änderungen des pH.
2. Im Kulturfiltrat wurde eine für *Bacillus mesentericus* toxisch wirkende Substanz gefunden, die mit Äther ausgeschüttelt werden kann.
3. Die Schädigung der Pflanzen durch Kulturfiltrat ist in erster Linie auf dieses Antibiotikum zurückzuführen.

E. Versuche über unmittelbare Antigenwirkung durch den Erreger

Diese Versuche bauten auf folgende Arbeitshypothese auf: In einem Kolben wird ein Gerstenkorn zum Keimen gebracht. In möglichst großer Entfernung davon wird der Pilz hinzugeimpft, so daß er erst nach längerer Wachstumszeit die Wurzeln der Gerste erreicht. Seine Stoffwechselprodukte treffen durch Diffusion im Agar bereits früher bei den Wurzeln ein. Sie vermögen dadurch den Wirt zu sensibilisieren, d. h. die Bildung von Abwehrstoffen zu veranlassen, wenn diese Stoffe überhaupt von den Wurzeln aufgenommen werden können. Weiter wurde angenommen, die Abwehrstoffe hätten die Möglichkeit, von den Wurzeln in den Agar hinaus zu diffundieren und würden so die Bildung einer Hemmungszone des Pilzwachstums entlang den Wurzeln verursachen oder würden doch die Wurzeln vor dem Befall durch den Pilz schützen.

Versuchsanordnungen:

- Der Boden von 500-cm³-Kolben wurde nur 2—4 mm dick mit Hayduk-Agar bedeckt, damit die Wurzeln an der Oberfläche wachsen mußten. In jedem Kolben wurde ein Gerstenkorn an der Wand ausgelegt und gegenüber der Pilz zugeimpft.

Die Sterilisation der Körner erfolgte nach der Entfernung der Spelzen, indem sie während 10 Min. in 1%iger Sublimatlösung und anschließend 10 Min. in steriles Wasser von 52° C gelegt wurden.

So wuchsen Wurzeln und Pilz einander langsam entgegen. Die Diffusionsgeschwindigkeit der Stoffwechselprodukte des Pilzes, d. h. wenigstens die einer Komponente, konnte mit *Bac. mesentericus* verfolgt werden. Die Versuche wurden so abgestimmt, daß die Pilzhypfen 3—6 Tage später als die Stoffwechselprodukte die Wurzeln erreichten.

- Um eine allfällige Antigenwirkung der Stoffwechselprodukte zu verstärken, wurde die unter 1 beschriebene Versuchsanordnung so abgeändert, daß gleich zu Beginn des Versuches 1 cm³ Hayduk-Kulturfiltrat je Kolben zugefügt wurde. Damit war auch die Reaktionszeit für die Pflanze um 7—10 Tage verlängert.

Ergebnisse: Entlang den Wurzeln konnten nie Hemmungszonen beobachtet werden, und auch die Wurzeln wurden vom Pilz befallen wie bei den Kontrollen, bei denen der Pilz direkt neben die Wurzeln geimpft wurde.

F. Versuche über Praemunität

Allgemeines

Bei der Praemunität schützt eine bestehende Infektion vor einer Superinfektion. Je nachdem, ob durch die Praemunität die ganze Pflanze oder nur der Ort, wo bereits eine Infektion haftet, gegen eine Reinfektion gefeit ist, spricht man von humoraler oder lokaler Praemunität. Die Praemunität wird also durch Infektionsversuche nachgewiesen.

Dieser Weg konnte bei meinen Untersuchungen nicht beschritten werden; denn durch eine bestehende Infektion wird ein Wirt mehr oder weniger geschädigt, was bei meinem Objekt schon an sich eine Verschiebung der

Krankheitsbereitschaft zur Folge hat. Meine Versuche stützten sich auf die Annahme, daß bei einer humoralen oder lokalen Praemunität in der ganzen Pflanze oder nur am Orte des Infektes für den Pilz toxisch wirkende Substanzen vorhanden sein müßten.

Diese nachzuweisen, war die Aufgabe der folgenden Untersuchungen.

2. Versuchsanordnung zum Nachweis humoraler Abwehrstoffe

Mit Warmwasser und Sublimat sterilisierte Körner wurden auf 6 cm hoher Schicht Hayduk-Agar in Reagenzgläsern zum Keimen gebracht. Nachdem der Keimling eine Höhe von 4—6 cm erreicht hatte und sich die Wurzeln dem Boden des Reagenzglases näherten, wurde der Pilz auf den Agar geimpft. Nach 4—5 Tagen waren alle Wurzeln an der Basis vom Pilz befallen und meist braun verfärbt. Der Sauerstoffverhältnisse wegen vermochte der Pilz den Wurzeln an der Basis nur etwa 1 cm tief in den Agar zu folgen. Der Ausdehnung der Infektion auf die Koleoptile oder das Blatt wirkte die zu niedrige Luftfeuchtigkeit entgegen. Befallen wurden also nur Pflanzenteile, die sich auf der Oberfläche des Agars befanden: Wurzelbasis und Gerstenkorn. In einer parallelen Versuchsserie wurde die Wirkung des Pilzes durch 1 cm³ Hayduk-Kulturfiltrat je Reagenzglas zu fördern gesucht.

Bei Annahme einer humoralen Praemunität müßte nun die ganze Pflanze durch Abwehrstoffe gegen Superinfektionen geschützt sein. Um solche Abwehrstoffe nachweisen zu können, wurde eine Methode angewendet, wie sie von Wuchsstoffuntersuchungen her bekannt ist: der Agartest. Nach Ruge (1943) werden aus 3 prozent. Agar Klötzchen von 2 mm Kantenlänge geschnitten und diese mit einer 15 prozent. Gelatine (15—20°C) auf eine saubere Schnittfläche der zu untersuchenden Pflanzen geklebt.

Zum Nachweis von humoralen Abwehrstoffen wurden Blätter und Wurzeln 4—5 cm von den Infektionsstellen entfernt abgeschnitten, und es wurde sofort nach Vorschrift ein Agarklötzchen aufgeklebt. Auch die abgeschnittenen Pflanzenteile erhielten einen Agarwürfel. Nachher wurden die Pflanzen in eine Feuchtkammer gestellt, damit der Agar nicht eintrocknete. Ein Versuch dauerte nur 5 Stunden, weil sich nach dieser Zeit die Gefäße schon geschlossen hatten. Eine Fläche des Agarwürfels wurde dann mit Sporen von *Helminthosporium sativum* besät (50—100 Sporen). Diese Agarklötzchen wurden in den Thermostaten gestellt und nach 12 Stunden die gekeimten Sporen gezählt. Die Temperatur für die Sporenenkeimung wurde suboptimal (16°C) gewählt und damit eine feinere Differenzierung der Ergebnisse erzielt.

3. Versuchsanordnung zum Nachweis lokaler Abwehrstoffe

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie sie im Abschnitt 2 beschrieben ist. Entsprechend der Definition von lokaler Praemunität wurde bloß der Ort der Untersuchung von der Peripherie zur Infektionsstelle und ihrer nächsten Umgebung verlegt: die Schnitte wurden direkt durch die befallenen Teile der Wurzel oder bis 2 mm außerhalb der erkrankten Zone geführt.

4. Ergebnisse

a) Alle Versuche zum Nachweis humoraler Abwehrstoffe verliefen negativ. In allen Versuchsreihen betrug die Sporenkeimung 95—97%.

b) Die Versuche zum Nachweis von lokalen Abwehrstoffen verliefen positiv, d. h. auf Agarwürfeln, die innerhalb einer erkrankten Zone angebracht waren, betrug die Sporenkeimung 0%; 2 mm außerhalb einer erkrankten Zone war sie bereits wieder auf 72,5% angestiegen. Eine Superinfektion an einer bereits erkrankten Stelle oder in deren nächster Umgebung würde also nie angehen, und man dürfte deshalb auf eine lokale Praemunität schließen. Bei der Interpretation dieser Tatsache ist aber große Vorsicht am Platze: werden nämlich Agarproben etwa 1—2 mm unter der Oberfläche, auf der sich der Pilz befindet, entnommen, und diese Proben mit Sporen besät, so keimen die Sporen nicht, auch dann nicht, wenn sie mit einem Tröpfchen Nährlösung auf den Agar gebracht werden — der Pilz hat sich sein Substrat selbst vergiftet. Es ist nun sehr wahrscheinlich, daß er auch in der Pflanze Stoffwechselprodukte ausscheidet, die auf ihn toxisch wirken. Wir haben keine Methode, um sicher entscheiden zu können, ob die in den erkrankten Geweben und ihrer Umgebung vorhandenen, auf die Sporenkeimung sehr stark hemmend wirkenden Stoffe durch die Pflanze gebildet werden, oder ob sie der Pilz zu seinem eigenen Nachteil produziert.

Wenn der Hemmungsstoff oder die Hemmungsstoffe, die sich im Agar bzw. in den erkrankten Geweben vorfinden, nicht einheitlicher Natur sind, was sehr wahrscheinlich ist, so ließen sie sich vielleicht durch einen mikrobiologischen Test trennen. Es ist jedoch genügend bekannt, daß Art und Menge von Stoffwechselprodukten vom Substrat abhängig sind. Hayduk-Agar und lebendes Gewebe sind aber so verschiedene Substrate, daß deswegen der Stoffwechsel des Pilzes völlig anders sein kann, und mühevoll gesuchter Test hätte nur einen geringen Aussagewert.

5. Kapitel

Diskussion der Ergebnisse und Schlußfolgerungen

1. Für die Versuchsgruppen, mit denen induzierte Abwehrreaktionen durch Sensibilisierung des Wirtes mit Kulturextrakten und Filtraten von Nährlösungen hätten nachgewiesen werden sollen, erwies sich der Wirt aus folgenden Gründen als unbrauchbar:

- a) Mit Modellversuchen konnte gezeigt werden, daß in der Entwicklung geschädigte oder stark gehemmte Gerstenpflanzen für *Helminthosporium sativum* Pammel, King et Bakke nicht mehr krankheitsanfällig sind.
- b) Bereits geringe Änderungen in der Konzentration der Nährlösungen, die ohne meßbaren Einfluß auf die Entwicklung der Pflanzen waren, vermochten die Krankheitsbereitschaft zu verschieben.

Dadurch ist eine Trennung von Ursache und Wirkung von vornherein unmöglich; doch erscheint, besonders im Vergleich mit den später zu diskutierenden Versuchsanordnungen, eine Antigenwirkung des Kulturfilters als sehr unwahrscheinlich.

2. Alle Versuche über Sensibilisierung des Wirtes durch Stoffwechselprodukte des Erregers sind auf unnatürliche Bedingungen aufgebaut; es handelt sich um Laboratoriumsmethoden, deren Bedingungen in der Natur nie realisiert sind.

Es wurde vorausgesetzt, daß Substanzen mit Antigencharakter, falls solche in den Extrakten oder den Nährösungen enthalten sind, von den Wurzeln tatsächlich aufgenommen werden können.

Nach neueren Ansichten in der Humanmedizin können Antigene in ihrem Bau mit Fermenten verglichen werden (Frei, 1946). Es handelt sich also um große, kompliziert gebaute Moleküle. Ohne diese Auffassung auf die Botanik übertragen zu wollen, können wir uns doch vorstellen, daß eine Verbindung als Antigen in Frage käme, die nicht direkt aufnehmbar ist.

Ganz abgesehen von der für die eigenen Untersuchungen unglücklichen Tatsache, daß die Krankheitsbereitschaft der Pflanze so leicht auf den Umweltfaktor Substrat anspricht, ist aus den eben dargelegten Gründen die Aussicht sehr klein, durch Arbeiten in dieser Versuchsstellung dem Problem der Immunität im Pflanzenreiche näher zu kommen.

Von den zahlreichen Versuchen mit positiven Ergebnissen, die den Fragenkomplex der Sensibilisierung des Wirtes durch Stoffwechselprodukte des Erregers behandeln, sind die Versuche mit Orchideen von Bernard, Nobécourt, Gäumann und Jaag die einzigen, welche die Existenz induzierter Abwehrreaktionen beweisen.

3. Bei den Versuchen über infektionsgebundene Abwehrreaktionen (Praemunität) wurde die Zahl der Flecken je Pflanze als Maßstab für die Krankheitsanfälligkeit aufgegeben und der Sporentest auf Agarwürfeln eingeführt.

Es wurde angenommen, im Falle der humoralen Praemunität würden sich im Zirkulationssystem der Pflanze Stoffe nachweisen lassen, die auf den Parasiten *Helminthosporium sativum* eine toxische Wirkung hätten. Dies bedeutet gegenüber den Möglichkeiten des Lebens eine Einschränkung: es wäre auch denkbar, daß die Pflanze nicht mit Abwehrstoffen antwortet, die sich direkt gegen den Parasiten richten, sondern solche produziert, die humoral eine Sensibilisierung der Zellen bewirken.

Weiter wäre hier der ganze Fragenkomplex über die Veränderung der Krankheitsbereitschaft durch Herabsetzung der Vitalität des Wirtes infolge eines Erkrankungsherdes zu nennen, ferner die Veränderung der Eindringungs- und Ausbreitungsresistenz: alle diese Faktoren müssen auf stofflichen Grundlagen beruhen, die heute wegen methodischen Schwierigkeiten noch nicht erfassbar sind.

Die Untersuchungen über humorale Abwehrstoffe verliefen negativ.

Positiv dagegen waren die Untersuchungsergebnisse über lokale Praemunität; doch drängt sich auch hier eine kritische Betrachtung über die Herkunft der für den Pilz toxischen Substanzen auf. Die Verhältnisse wurden im Anschluß an die Versuche eingehend erörtert.

Literaturverzeichnis

- Arata, M., 1935. Il meccanismo dell'immunità nei vegetali. *Boll. Ist. Sier. Mil.* **19**, 1—38.
- Arnaudi, C., 1925. Sull'immunità acquisita nei vegetali. *Atti Soc. ital. Sci. natur.* **64**, 230.
- Arnaudi, C., 1933. On the vaccination of the tobacco plant against *Thielaviopsis basicola*. *Bull. Torrey Botan. Club* **60**, 583—596.
- Arnaudi, C., 1933. Über die Technik der künstlichen Immunisierung der Pflanzen. *Phytopath. Zeitschr.* **6**, 525—530.
- Arnaudi, C., 1942. Recenti Acquisizioni in Tema d'Immunità vegetale. *Riv. Pat. Veg.* **5**, 1—20.
- Ashley, J. N. and Raistrick, H., 1938. Luteoleersin and Alboleersin, Metabolic Products of *H. leersii* Atkinson. *Biochem. Journ.* **32**, 449.
- Baldacci, E., 1935. A proposito della vaccinazione nelle piante superiori. *N. Giorn. Bot. Ital.* **42**, 599—603.
- Baldacci, E., 1936. Richerche intorno alla cosiddetta vaccinazione nelle piante. *Atti Ist. Bot. Univ. Pavia*, **7**, 2—56.
- Baldacci, E., 1937. Nuove Ricerche sulla Vaccinatione delle Piante. *Atti Ist. Bot. Univ. Pavia*, **10**, 1—19.
- Baldacci, E. ed Cabrini, E., 1938. Biologia di una Rizottonia usata nelle ricerche di vaccinazione. *Atti Ist. Bot. Univ. Pavia*, **11**, 24—73.
- Bernard, N., 1911. Sur la fonction fungicide des bulbes d'Ophrydées. *Ann. Sc. Nat. Bot.* **14**, 223.
- Bernard, N., 1909. Remarques sur l'immunité chez les plantes. *Bull. Inst. Pasteur* **7**, 369.
- Broadfoot, W. and Tyner, L., 1938. Studies on foot and root rot of wheat. *Can. J. Research* **16C**, 125—134.
- Brown, N. A., 1923. Experiments with paris daisy and rose to produce resistance to crowngall. *Phytopath.* **13**, 87—99.
- Carbone, D. et Arnaudi, C., 1924. Nuove esperienze sulle reazioni immunitarie delle piante. *Atti Soc. It. Sc. Nat. Milano* **43**, 269.
- Carbone, D., 1925. Risultati degli studi sulle reazioni immunitarie delle piante. *Bol. Ist. Sier. Milano* **19**, 63—71.
- Carbone, D., 1928. Über die aktive Immunisierung der Pflanzen. *Zentralbl. Bakter. II*, **76**, 428.
- Carbone, D. ed Kalajev, A., 1933. Ricerche sulla vaccinazione delle piante. *Phytopath. Zeitschr.* **5**, 91—97.
- Carbone, D., 1934. L'immunità vaccinale nelle piante. *Natura* **25**, 111—134.
- Carbone, D. et Alexandri, V., 1935. Recherches sur les anticorps chez les végétaux. *Boll. Sez. It. Soc. Int. Microbiol.* **6**, 1—5.
- Charles, J., Raistrick, H., Robinson, R. and Todd, A., 1933. Helminthosporin and Hydroxyisohelminthosporin, metabolic products of the plant pathogen *H. gramineum* Rabenh. *Biochem. Journ.* **27**, 499.
- Chester, S., 1933. Studies in bacteriophage in relation to phytopathogenic bacteria. *Zentralbl. Bakter.* **89**, 1—30.
- Christensen, J., 1922. Studies on the parasitism of *Helminthosporium sativum*. *Techn. Bull. Univ. Minnesota*, **11**, 7—10.
- Christensen, J., 1926. Physiologic Specialisation and parasitism of *Helminthosporium sativum*. *Techn. Bull. Univ. Minnesota*, **37**, 13.
- Freemann, E. N., 1911. Resistance and immunity in plant diseases. *Phytopath.* **1**, 109—116.
- Frey-Wyssling, A., 1938. Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin, 215—220.
- Frey-Wyssling, A., 1948. Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. New-York, 176—179.
- Frei, W., 1946. Wesentliche Ergebnisse der Immunologie. *Ärztl. Monatsh.* 94—124.
- Gäumann, E. und Jaag, O., 1945. Über induzierte Abwehrreaktionen bei Pflanzen. *Experientia* **1**, 21.
- Gäumann, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. Basel.

- Hansen, H. P., 1932. Forsøg paa aktiv Immunizing af Kaalroe. *Brassica napus* mod Rhizoctoniose. *Nord. Jordburgsf.* 191—200.
- Jarach, M., 1932. Sul meccanismo dell'immunità acquisita attiva nelle piante. *Phytopath. Zeitschr.* **4**, 315—327.
- Kostoff, D., 1932. Studies on the acquired immunity in plants induced by grafting. *Zeitschr. Immunitätsf.* **74**, 339—346.
- Kunkel, L. O., 1934. Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. *Phytopath.* **24**, 437—446.
- Leemann, A. O., 1932. On the problem of active plant immunity. *Zentralbl. Bakter.* **85**, 360—376.
- Linder, A., 1945. Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure. Basel.
- Magrou, J., 1918. L'immunité dans la symbiose. *Ann. Inst. Pasteur* **32**, 37—47.
- Magrou, J., 1938. Contribution à l'étude de l'immunité humorale chez les plantes. *Ann. Inst. Pasteur*.
- Manil, P., 1936. Contribution à l'étude de l'immunité chez les plantes. Bruxelles.
- Müller, K. O. und Böger, H., 1941. Experimentelle Untersuchungen über die Phytophthora-Resistenz der Kartoffel. Zugleich ein Beitrag zum Problem der „erworbenen Resistenz“ im Pflanzenreich. *Arb. Biol. Reichsanstalt* **23**, 189—231.
- Nobécourt, P., 1928. Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux. Tunis.
- Nobécourt, P., 1933. L'immunité chez les végétaux. *Ass. Franc. avanc. Sc.* 113—130.
- Parker-Rhodes, A. F. T., 1939. Humoral immunity among plants. *Nature* **144**, 907.
- Raistrick, H., Robinson, R. and Todd, R., 1933. Cynodontin, a metabolic product of *H. ceyondontis* Marig. and *H. euchlaenae* Zim. *Biochem. Journ.* **27**, 1170.
- Raistrick, H., Robinson, R. and Todd, R., 1934. a) On the production of Hydroxyanthraquinones by Species of *Helminthosporium*. b) Isolation of Tritisporin. *Biochem. Journ.* **28**, 559.
- Raistrick, H., Robinson, R. and White, E., 1936. Ravenelin, a new metabolic product of *H. ravenelii* Curtis and of *H. turicum* Passerini. *Biochem. Journ.* **30**, 1303.
- Ruge, U., 1943. Übungen zur Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Pflanze. Berlin.
- Salaman, R. N., 1933. Protective inoculation against a plant virus. *Nature* **131**, 468.
- Sardiña, J. R., 1926. Zur Frage der Antikörperbildung bei Pflanzen. *Angew. Bot.* **8**, 289.
- Savulescu, T. et Tomescu, V. C., 1940. Essais de vaccination contre la bactériose de l'herbe de Sudan par l'aspersion du sol avec du vaccin. *Acad. Roumanie, Bull. Sec. Sc.* **22**, Heft 9.
- Schiff-Giorgini, R., 1906. Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit des Ölbauern. *Zentralbl. Bakter.* II, **15**, 200—211.
- Silberschmidt, K., 1931. Natürliche Resistenz und erworbene Immunität bei Pflanzen und Tieren. *Sitzungsber. Gesellsch. Morphol. u. Physiol. München* **40**, 49—59.
- Silberschmidt, K., 1931. Studien zum Nachweis von Antikörpern in Pflanzen I. *Planta*, **13**, 114—168.
- Silberschmidt, K., 1932. Studien zum Nachweis von Antikörpern in Pflanzen II. *Planta* **17**, 493—587.
- Silberschmidt, K., 1933. Beiträge zur Kenntnis der Stoffwechselgemeinschaft zwischen Pflanzengesellschaften. *Planta* **19**, 669—780.
- Smith, F. Brown, A. and Townsend, C., 1911. Crown-gall of plants: its cause and remedy. *Bull. Dep. Agric.* **213**.
- Tehon, L. R., 1944. Experimental immunisation of american Elm from infection by *Verticillium albo-atrum*. *Phytopath.* **34**, 1012.
- Thom, C. and Church, 1926. The Aspergilli London, 41.
- Thom, C., 1930. The Penicillia London, 39.
- Tyner, L. and Broadfoot, W., Foot and root rot of wheat. *Can. J. Research* **21 C**, 18—25.
- Whitaker, W. and Chester, S., 1933. Studies on the precipitin reaction in plants IV. The question of acquired reaction due to grafting. *Am. Journ. Bot.* **20**, 297—308.
- Wuhrmann, K., 1937. Der Einfluß von Neutralsalzen auf das Wachstum der Avena-Koleoptile. Promotionsarbeit, ETH, Zürich.
- Zoja, A., 1924. L'immunità nelle piante. *Atti Ist. Bot. Pavia* **15**—47.

*Aus der Biologischen Zentralanstalt des Vereinigten Wirtschaftsgebietes,
Institut für Bakteriologie und Serologie, Braunschweig-Gliesmarode*

Serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen

Von

R. Bercks

Einleitung

Nach dem Tabakmosaik- ist wohl das Kartoffel-X-Virus das bestuntersuchte pflanzenpathogene Virus. Der Grund dafür liegt in einigen Eigenschaften, die die Anwendung mannigfacher Prüfungsmethoden und eine Bearbeitung in verschiedenster Richtung gestatten. Um so erstaunlicher mag es auf den ersten Blick erscheinen, daß der weitaus größte Teil der Untersuchungen an X-kranken Tabakpflanzen bzw. mit auf Tabak kultiviertem Virus, dagegen nur ein geringer Prozentsatz am natürlichen Medium, der Kartoffelpflanze, durchgeführt worden ist. Diese Tatsache wird aber verständlich, wenn man bedenkt, wie schwierig bzw. ganz unmöglich z. B. schon das sichere Erkennen des Virus auf der Kartoffel ist. Trotzdem ist es sowohl aus praktischen wie auch theoretischen Gründen notwendig, sein Verhalten in der Kartoffelpflanze, ungeachtet der sich dabei ergebenden Schwierigkeiten, eingehender zu prüfen. Die serologische Methode schien uns dazu geeignet zu sein.

Im allgemeinen wird angenommen, daß sich das X-Virus in den oberirdischen Teilen der Kartoffelpflanze auf serologischem Wege verhältnismäßig leicht nachweisen läßt. Genauere Untersuchungen liegen aber meines Wissens nicht vor, und so verfolgte die vorliegende Arbeit zwei Ziele, einmal Beobachtungen über das Verhalten des X-Virus in der Kartoffelpflanze zu sammeln, und zum anderen, die Leistungsfähigkeit der serologischen Methode in dieser Hinsicht zu prüfen.

Methodisches

Bisher machten bei der Untersuchung von Kartoffellaub unspezifische Reaktionen Schwierigkeiten, die vor allem dann auftraten, wenn der untersuchte Presssaft aus Blättern mit Faulstellen oder Abreifeerscheinungen gewonnen war, worauf schon von Stapp (6) hingewiesen wurde. Mit Hilfe der „Blättchenmethode“ (an Papier angetrocknete Seren) gelingt es aber, wie gemeinsam mit Stapp (7) kürzlich an einigen Beispielen gezeigt wurde, die unspezifischen Reaktionen weitgehend auszuschalten. Deshalb wurden alle Untersuchungen nach dieser Methode vorgenommen. Sie brachten an einem

umfangreichen Material eine Bestätigung und endgültige Sicherung der früheren Angaben. Bei 2463 Untersuchungen von grünen, in der Abreife befindlichen, vergilbenden und auch schon ganz vergilbten Blättern, die darüber hinaus zum Teil noch starke Vertrocknungen aufwiesen, blieben nur 41, das sind 1,66 %, unspezifisch. Dabei war zwischen den geprüften Sorten: Erstling, Flava und Prisca kein Unterschied vorhanden. Zu Beginn der Untersuchungen lag der Prozentsatz ein wenig höher; als wir aber dazu übergingen, den Presssaft über Nacht bei etwa +3° C zu halten und erst am nächsten Morgen zu prüfen, trat praktisch überhaupt keine unspezifische Reaktion mehr auf, während bei früheren Untersuchungen von Dunkelkeimsäften mit flüssigen Seren eine Kältebehandlung, die bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt wurde, wohl eine gelegentliche, aber keine sichere Ausschaltung der unspezifischen Reaktionen brachte.

Untersuchungen an „Erstling“-Pflanzen

Die Sorte „Erstling“ ist bekanntlich hundertprozentig mit dem X-Virus verseucht, und der serologische Nachweis macht bei einer im Wachstum schon ziemlich fortgeschrittenen Pflanze keine Schwierigkeiten [Stapp (6)]. Es steht aber noch nicht fest, ob sich das Virus in jedem Entwicklungsstadium nachweisen lässt. Deshalb wurden am 2. Juni 1948 eine Reihe Knollen im Gewächshaus in 20-cm-Tontöpfen und am 5. Juni weitere im Freien ausgelegt. Auf diese Weise sollte auch geprüft werden, wie weit die Gewächshausbedingungen den natürlichen Verhältnissen entsprachen.

Am 14. Juni wurden von 5 Gewächshauspflanzen je 2 grüne Sprosse, deren Länge ungefähr 2—5 cm betrug, mit dem Ergebnis geprüft, daß keine sichtbare Reaktion auftrat. Um festzustellen, ob dieses negative Ergebnis durch unnatürliche Verhältnisse im Gewächshaus verursacht war, wurden am 16. Juni Paralleluntersuchungen von je 6 gleichgroßen Sprossen aus dem Gewächshaus und dem Freiland vorgenommen. Die größten Triebe waren etwa 6 cm groß. Das Ergebnis war wiederum negativ.

Am 19. Juni ergab die Laubuntersuchung von 6 Freilandpflanzen, die eine Höhe von ungefähr 15 cm erreicht hatten, die ersten Reaktionen von der Stärke + + — + + +¹⁾), während eine nur 8 cm große Pflanze keine Reaktion zeigte.

Nach diesen Ergebnissen hatte es den Anschein, als ob das Virus erst von einer bestimmten Sproßgröße an nachweisbar wäre. Demgegenüber ergaben aber Prüfungen von Gewächshauspflanzen am 23. Juni, daß keine derartige Korrelation bestand. Die untersuchten Pflanzen hatten inzwischen bis zu 12 Trieben entwickelt. Von den größten Trieben wurden einzelne Blätter geprüft, während die kleinen (5—10 cm) im ganzen zu Presssaft verarbeitet wurden. Das Virus ließ sich jetzt weitgehend serologisch nachweisen. Von 16 Proben reagierten 14 positiv, darunter befanden sich alle untersuchten kleinen Triebe. Die beiden negativen Reaktionen stammten von der Pflanze 130.

¹⁾ Bonitierung der serologischen Reaktion von 0—+++, 0 = Spur, 0u = unspezifisch, 0? = fraglich.

Von ihr waren drei Proben genommen, und zwar ein Trieb von 5 cm Länge, der positiv reagierte, und je ein Blatt aus dem oberen Teil eines 13 bzw. 20 cm langen Triebes, die keine Reaktionen gaben. Ein ähnliches Bild zeigte sich bei einer eingehenden Analyse der Gewächshauspflanze 128 am 24. Juni (Tabelle 1).

Tabelle 1

Prüfung der Erstling-Pflanze Nr. 128 am 24. Juni 1948

Serologischer Befund, Stengel- und Blattlänge (cm)

Stengel	Blatt Nr. ¹⁾							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I 3,5 cm	0/+							
II 15 cm	2,4 +	3,4 ++	6,5 ++	7,5 +//+	4,5 0?	3,0 0		
III 19 cm	1,5 +//+	1,5 +//+	4,9 +//+	9,0 +	6,5 +//+++	8,3 ++	4,3 0/+	3,2 0
IV 20 cm	3,8 +//+	6,7 +	9,0 ++	10,2 +//+++	7,0 +++	5,2 +//+++	3,0 0?	
V 18 cm	1,5 +//+	2,1 +//+	15,0 +//+++	12,5 +//+++	13,0 +//+	11,5 ++	5,2 0/+	3,5 0?

Sproß I ergab bei einer Länge von nur 3,5 cm eine, wenn auch nur schwache, so doch einwandfreie Reaktion. Sproß II hatte eine Höhe von 15 cm erreicht, seine 6 Blätter befanden sich noch in der Entwicklung und hatten eine Größe von 2,4—7,5 cm. Die unteren 4 Blätter zeigten Reaktionen in der Stärke +//++, während das Virus in den Spitzenblättern zumindest noch nicht in genügender Konzentration vorhanden war, um sich serologisch einwandfrei nachweisen zu lassen. Sproß III hatte eine Länge von 19 cm. Seine beiden untersten Blätter waren erst je 1,5 cm groß. Ihr Presssaft konnte wegen zu geringer Saftausbeute nur gemeinsam geprüft werden, er reagierte positiv. Von den übrigen 6 Blättern reagierten die 5 nächsten ebenfalls positiv, während das Spitzenblatt keine Reaktion erkennen ließ. Trieb IV und V verhielten sich ähnlich; es sei nur noch hervorgehoben, daß das Virus im Presssaftgemisch der beiden unteren 1,5 bzw. 2,1 cm großen Blätter von Trieb V ebenfalls, wie bei den beiden unteren Blättern von Sproß III, einwandfrei nachweisbar war.

Am selben Tage wurde eine Freilandpflanze untersucht (Tabelle 2), deren 8 Triebe in der Länge zwischen 6 und 12 cm schwankten.

Es zeigte sich auch hier, daß die unteren noch in der Entwicklung befindlichen Blätter einwandfreie, ja sogar gute Reaktionen ergaben. Die übrigen (im ganzen handelte es sich um 35 Proben) reagierten ebenfalls bis auf ein Spitzenblatt positiv. Wir beobachten also die gleichen Erscheinungen wie bei der Gewächshauspflanze mit nur dem einen Unterschied, daß das Virus auch in

¹⁾ Nr. 1 gleich unterstes Blatt.

Tabelle 2
Prüfung einer Erstling-Freilandpflanze am 24. Juni 1948
Serologischer Befund, Stengel- und Blattlänge (cm)

Stengel	Blatt Nr. ¹⁾						
	1	2	3	4	5	6	7
I 6,0 cm				+++			
II 8,0 cm	2,4 ++	3,6	4,0	4,5 +	3,0		
III 9,0 cm	3,8 ++/+++	7,0 ++	8,0 +++	6,5 ++	6,0 +++	4,2 0?	
IV 11,0 cm	5,0 ++	6,0 ++/+++	7,5 +++	10,5 +++	6,7 ++	6,1 ++/+++	5,2 ++/++
V 10,5 cm				++/++			
VI 12,0 cm	4,4 ++/+++	6,5 ++/+++	10,0 ++/+++	9,0 ++/++	7,5 ++/+++	5,0 ++	3,8 +
VII 10,0 cm	3,0 ++	5,7 ++/+++	9,8 ++	11,7 ++/+++	7,2 ++/++	7,5 ++/++	
VIII 10,5 cm	7,0 ++	7,1 +/++	8,5 +/++	9,7 ++	8,0 -	6,4 ++	

den Spitzenblättern schon in größerer und deshalb nachweisbarer Konzentration vorhanden war.

Die Prüfung der Gewächshauspflanze 121 am 8. Juli zeigte eine schlechtere Durchdringung als bei der Pflanze 128 am 24. Juni. Von 40 Proben waren nur 29 (72,5 %) positiv. Besonders fiel auf, daß ein 12 cm langer Sproß, dessen Blätter eine Größe von 3,9—5,4 cm erreicht hatten, keine positive Reaktion ergab.

Am 6. und 27. Juli durchgeführte Analysen der Gewächshauspflanzen 124 und 130 waren in ihrem Ergebnis noch schlechter. Von 29 Proben der ersten Pflanze waren nur 16, das sind also ungefähr 41 %, positiv und bei der zweiten (Tabelle 3) von 50 auch nur 24, d. h. 48 %.

Das Virus war, unabhängig von der Größe der Stengel, im allgemeinen nur in den unteren Blättern nachzuweisen, eine Erscheinung, die in der Tendenz schon bei der Pflanze 121 angedeutet war. Wie Tabelle 3 ausweist, war es bei der Pflanze 130 in den kleinsten Trieben von 3—5 cm schon gut feststellbar, woraus aber auch für diesen Zeitpunkt nicht geschlossen werden darf, daß das Virus allgemein in kleinen Sprossen stärker vorhanden ist als in größeren. So war es z. B. bei der Pflanze 124 in einem 14 cm langen Stengel überhaupt nicht, wohl aber in größeren von über 20 cm, wenn auch nur in den unteren Blättern, zu finden.

¹⁾ Nr. 1 gleich unterstes Blatt.

Tabelle 3
Prüfung der Erstling-Pflanze Nr. 130 am 27. Juli 1948

Stengel	Blatt Nr. ¹⁾								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
I 5 cm				++					
II 3 cm				++					
III 3 cm				+					
IV 28 cm	+		+	+	0	0	0	0	
V 21 cm	++	++	++/+++	0	0	0			
VI 33 cm	+	+/++	++	<u>0</u>	0	0	0	0	0
VII 32 cm	+/++	+/++	<u>0</u> u	<u>0</u> u	0	0	0		
VIII 29 cm	+	+	+/++	++	0	0	0		
IX 25 cm	+	+	++	+	+?	0			
X 16 cm	++	+/++	0	0	0				

Ein wesentlich günstigerer Nachweis war wiederum bei einer Freilandpflanze (Tabelle 4), die am 27. Juli zum Vergleich geprüft wurde, möglich.

Tabelle 4
Prüfung einer Erstling-Freilandpflanze am 27. Juli 1948

Stengel	Blatt Nr. ¹⁾								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
I 8 cm				+++++					
II 16 cm	+/++	++	-	+	0				
III 19 cm	+/++	+/++	+	+/++	++	++	++	++	0/+
IV 14 cm	++	++	++/+++	+++	+++	0/+			
V 20 cm	++	++	++	++	+/-/++	0/+	0		
VI 16 cm	+++	+++	++	++	+	0	0		
VII 20 cm	+/-/++	+/-/++	++	+/-/++	+/-/++	++/++	++/++	0/+?	0

¹⁾ Nr. 1 gleich unterstes Blatt.

Von 42 Blattproben waren 36, rund 86 %, positiv. Negativ reagierten höchstens das oberste und zweitoberste Blatt. Gegenüber den Gewächshauspflanzen ist zu beachten, daß die Triebe im Freiland bekanntlich nicht so lang werden, ein Unterschied, der übrigens auch beim Vergleich der Tabellen 1 und 2 abgelesen werden kann.

Die in den beiden folgenden Tagen (28. und 29. Juli) durchgeföhrten Prüfungen von Gewächshauskulturen ergaben auch bei diesen eine erhebliche stärkere Durchdringung. Die Blätter der Pflanzen 123 reagierten zu rund 74 % positiv, die der Pflanze 129 zu ungefähr 76 % und die der Nummer 122 sogar zu fast 85 %. Bei letzterer waren von 48 Proben 41 positiv und nur 2 klar negativ, von den übrigen waren 2 fraglich und 3 unspezifisch. Zu beachten ist, daß die Spitzenblätter zum Teil auch positive Reaktionen ergaben.

Bei zwei gleichzeitig untersuchten Freilandpflanzen waren in dem einen Fall von 31 Blattproben 30 und in dem zweiten von 38 Blättern 35 positiv.

Am 30. Juli war das Virus in den Gewächshauspflanzen endlich hundertprozentig nachzuweisen, ebenso auch wieder in einer geprüften Freilandpflanze.

Während der voraufgegangenen Untersuchungen war aufgefallen, daß einzelne schon vergilzte Blätter ebenso einwandfrei positive Reaktionen gaben wie vollkommen grüne. Diese Beobachtungen machten wir uns zunutze, um die Frage zu prüfen, wie weit sich das Virus bei Freilandpflanzen, die sich in der Abreife befinden, nachweisen läßt. Am 24. August wurden deshalb 8 Triebe von verschiedenen Pflanzen, deren Größe zwischen 26 und 40 cm schwankte, untersucht. Ein Teil der Blätter war schon vertrocknet und konnte aus diesem Grunde nicht mehr geprüft werden. Die untersuchten waren zum Teil noch grün (mit einzelnen vertrockneten Stellen), zum Teil begannen sie zu vergilben oder waren schon ganz vergilbt. Bei 7 Stengeln war das Virus in allen Blättern zu finden, nur bei einem war es in dem unteren nicht, wohl aber im Spitzenblatt nachzuweisen. Am 31. August wurden weitere 8 Triebe, die sich in einem ähnlichen Zustand befanden, analysiert. Alle Blätter bis auf 2, deren Reaktionen zweifelhaft waren, brachten einwandfrei positive Ergebnisse, selbst solche machten keine Ausnahme, bei denen ein Teil der Fiederblättchen schon ganz vertrocknet war. Es zeigte sich also die Tatsache, daß das Virus bis zur vollkommenen Abreife, solange überhaupt Preßsaft aus den Blättern gewonnen werden konnte, ohne Schwierigkeiten serologisch nachzuweisen war.

Untersuchungen an der Sorte „Prisca“

Um zu prüfen, ob diese Beobachtungen auch für andere Sorten gelten, wurden sie auf Freilandpflanzen der Sorte Prisca ausgedehnt, die aus X-kranken Knollen herangezogen waren. Diese waren erst am 17. Juli ausgelegt worden. Infolgedessen waren die Stauden Anfang September noch voll grün und erwiesen sich als hundertprozentig krank, d. h. jedes Blatt gab eine positive Reaktion. Im letzten Drittel des Oktober wurden dann 47 Stengel von 16 Pflanzen

geprüft, die sich jetzt in einem ähnlichen Vergilbungssstadium befanden wie die „Erstling“ Ende August. Im Gegensatz zu dieser Sorte war das Virus nicht mehr in allen Blättern zu finden, und zwar zeigten die vergilbten keine Reaktion mehr. Im einzelnen gab es selbstverständlich, wenn auch nur selten, Ausnahmen von dieser Regel, derart, daß auch in einem grünen Blatt das Virus nicht gefunden wurde bzw. daß es in einem schon vergilbten Blatt vorhanden war. Diese Ausnahme trat aber bei grünen Blättern niemals auf, wenn alle Blätter des Sprosses noch grün waren. Die Verhältnisse — wie sie im allgemeinen angetroffen wurden — werden durch das Beispiel der beiden Stengel von Pflanze Nr. 8 (Tabelle 5) gut wiedergegeben.

Tabelle 5
Prüfung der Prisca-Pflanze Nr. 8 am 23. Oktober 1948

Stengel I, 35 cm			Stengel II, 41 cm		
Bl.-Nr.	Färbung	serologische Prüfung	Bl.-Nr.	Färbung	serologische Prüfung
1	leicht vergilbt	++/+++	1	grün	+++
2+3	grün	++/+++	2	grün	++/+++
4	leicht vergilbt	0	3	grün	++/+++
5+6	vertrockn. Stellen 0/+ ¹⁾		4+5	grün	+++
7	Beginn der Vergilbung	++	6+7	grün	++++/++++
7	vergilbt	0	8	vergilbt	0
8	vergilbt	0		vertrocknete Stellen +	
9	vergilbt	0	9	leicht vergilbt	+//++
10	Beginn der Vergilbung	++/+++	10	leicht vergilbt	0/+
				vertrocknete Stellen +	
			11	grün	++/+++
			12	vergilbt	0
			13	vertrocknete Stellen +	
			14	Beginn der Vergilbung	++/+++
			15	Beginn der Vergilbung	+++
			16+17	Beginn der Vergilbung	+++
				grün	++++/++++

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß noch grüne bzw. erst vergilbende Blätter gute oder sogar starke serologische Reaktionen ergaben, während Preßsäfte der vergilbten Blätter nicht mehr reagieren. Eine Zwischenstellung nahmen die als leicht vergilbt bezeichneten Blätter ein. Eines von ihnen gab eine beinahe starke Reaktion, ein zweites auch noch eine fast gute, ein drittes, das außerdem noch leichte Vertrocknungen aufwies, nur eine sehr schwache und schließlich ein vierter überhaupt keine Reaktion.

Infektionsversuche an der Sorte „Flava“

Aus den bisherigen Ergebnissen darf u. a. geschlossen werden, daß die Verteilung und Ausbreitung des X-Virus im Kartoffellaub bei sekundär kranken Pflanzen²⁾, wenn auch nicht bis in die letzten Einzelheiten, so doch gut sero-

¹⁾ Bonitierung ebenfalls von 0 — ++++.

²⁾ Sekundär kranke Pflanzen = Pflanzen aus kranken Knollen.

logisch zu bestimmen ist. Als nächstes sollte nun geprüft werden, wie die Ausbreitung des X-Virus bei Primärerkrankungen vor sich geht. Um diese Frage zu klären, wurden am 27. und 29. Mai über 100 gesunde Flavaknollen¹⁾ im Gewächshaus in 20-cm-Tontöpfen ausgelegt, die mit einem Kompost-Torf-Gemisch gefüllt waren. Die Infektion der Pflanzen wurde mit dem Köhlerschen Stamm **Cs 35**, der auf der Tabaksorte „Samsun“ gezüchtet war, in den verschiedensten Entwicklungsstadien und an den verschiedensten Blättern vorgenommen. Im Laufe der serologischen Prüfung stellte sich heraus, daß es nicht notwendig war, alle Pflanzen zu untersuchen; wir beschränkten uns deshalb auf 60.

Die ersten Infektionen wurden am 11. und 12. Juni durchgeführt. Die Pflanzen hatten zu diesem Zeitpunkt eine Größe von 4—16 cm erreicht. Die Zahl der gebildeten Stengel schwankte zwischen 1 und 12. Infiziert wurden ganze Triebe (sämtliche Blätter), ein einziges oder mehrere Blätter eines Sprosses oder auch je ein Blatt von zwei Stengeln. Dadurch, daß auch der Entwicklungszustand der Blätter und die Höhe ihrer Insertion berücksichtigt wurden, ergaben sich die verschiedensten Möglichkeiten.

Einige Beispiele seien im folgenden angeführt. Von 4 Trieben der Pflanze Nr. 50 (je etwa 4 cm lang) wurde einer ganz infiziert. Pflanze Nr. 30 (6 Stengel von etwa 8 cm Länge) wurde an einem Blatt eines Triebes eingerieben. Von Pflanze Nr. 13 (4 Stengel von 12 cm) wurde ein unteres noch in der Entwicklung befindliches Blatt ausgewählt, während Pflanze Nr. 108 (7 Stengel von 5 cm) je an einem unteren Blatt von 2 Trieben infiziert wurde. Bei der Pflanze Nr. 36, die nur einen Trieb von 6 cm entwickelt hatte, wurde allein die unpaarige schon verhältnismäßig große Fieder an der Spitze eines Blattes mit dem Virus eingerieben. Schließlich sei noch vermerkt, daß an 5 Pflanzen, deren Sproßzahl zwischen 3 und 10 lag und deren Sproßgrößen zwischen 2,5 und 16 cm schwankten, alle Blätter beimpft wurden.

Im ganzen waren an diesen beiden Tagen 22 Pflanzen infiziert worden, die auch sämtlich später untersucht wurden. In ähnlicher Weise wurde in Abständen von einem oder mehreren Tagen bis zum 14. Juli verfahren und dadurch erreicht, daß praktisch Pflanzen jeder Größe (die längsten infizierten Triebe hatten eine Größe von 60 cm) in den Versuch einbezogen wurden.

Da sich wegen des Ausgangs der Versuche eine genaue Beschreibung erübrigt, seien wiederum nur wenige Beispiele herausgegriffen. Am 15. Juni hatte die Pflanze Nr. 33 (12 Triebe) ungefähr eine Höhe von 25 cm erreicht; von 2 Trieben wurde je ein Blatt zur Infektion ausgesucht. Am 17. Juni hatten von den drei Stengeln der Pflanze Nr. 72 zwei eine Länge von 29 cm und der dritte von 34 cm; an allen dreien wurde ein ganzes Blatt infiziert. Von der Pflanze Nr. 75 wurde am 21. Juni ein oberes Blatt eines 41 cm großen Stengels eingerieben.

Die ersten serologischen Prüfungen, und zwar der am 11. und 12. Juni infizierten Pflanzen, wurden am 28. und 29. desselben Monats durchgeführt. Die Stauden waren während dieser Zeit stark gewachsen. Bei der schon erwähnten Pflanze Nr. 50, die zur Zeit der Infektion nur 4 cm groß war, hatte der infizierte Sproß eine Länge von 35 cm erreicht. Von seinen 9 Blättern zeigten Nr. 5—8 ein positives Ergebnis. Bei der Pflanze Nr. 13 war die Länge des infizierten Triebes von 12 auf 56 cm gestiegen. Von seinen 7 Blattproben ergab nur die des zweituntersten Blattes eine schwache Reaktion, während die nichtinfizierten Triebe kein positives Ergebnis zeigten. Bei der

¹⁾ Für die Überlassung des auf seinen Gesundheitszustand geprüften Materials sei auch an dieser Stelle den Herren Oberregierungsrat Dr. Köhler und Dr. Bode in Celle bestens gedankt.

Pflanze Nr. 45 waren an einem 8 cm langen Sproß 3 Blätter mit dem Virus eingerieben worden, seine Länge betrug jetzt 51 cm. Von vier untersuchten Blättern zeigte keines eine Virusreaktion. Am 6. Juli war der Sproß noch um 7 cm auf 58 cm gewachsen; von drei zu diesem Zeitpunkt geprüften Blättern reagierte eines positiv. Ähnlich wie bei den beiden letztgenannten war das Ergebnis bei allen 12 bis zum 6. Juli geprüften Pflanzen, d. h. bei 10 von ihnen wurde das Virus nachgewiesen, aber nur jeweils in einem oder höchstens in 2 Blättern des infizierten Triebes. Daraus wurde zunächst gefolgert, daß das Virus noch nicht genügend Zeit gefunden habe, um die Pflanzen in stärkerem Maße zu durchdringen. In diese Richtung schien auch die schon besprochene anfänglich nicht vollkommene Durchdringung bei den Gewächshauspflanzen der Sorte „Erstling“ zu weisen. Aus diesem Grunde wurde mit der Hauptuntersuchung bis zum August gewartet. Das Ergebnis war allerdings anders als erwartet. Das Virus war nicht etwa in stärkerem Maße, sondern noch schlechter nachzuweisen als vorher. Von 48 Pflanzen war es nur noch in 15 zu finden. Nachdem sich bei 20 Stauden gezeigt hatte, daß das Virus in keinem Blatt eines nichtinfizierten Triebes gefunden werden konnte, wurde auf die Untersuchung dieser Triebe verzichtet und zu weiteren Prüfungen jeweils nur der Sproß herangezogen, der ganz oder auch nur an einem Blatt mit dem Virus eingerieben worden war. In allen Fällen war es so wie in den ersten untersuchten: eine positive Reaktion wurde jeweils nur mit einem oder mit zwei Blattpressäften erzielt. Es ließ sich dabei keine Beziehung zur Anzahl der infizierten Blätter, ihrem Alter oder der Höhe der Insertion beobachten. Besonders auffällig war das auch für die schon erwähnten 5 Pflanzen, die am 12. Juni an allen Teilen infiziert waren. Auf sie sei, um das Gesagte zu erläutern, etwas näher eingegangen. Pflanze Nr. 1 hatte zur Zeit der Infektion 3 Triebe von 3,9 und 16 cm Länge. Jetzt waren es 6 mit einer Länge von 25—72 cm, die sämtlich untersucht wurden. Die drei infizierten waren 60, 67 und 72 cm lang und hatten im Durchschnitt 10 Blätter. Von ihnen reagierte nur das zweitunterste Blatt eines Sprosses positiv. Pflanze Nr. 2 hatte am 12. Juni 9 Triebe von 2,5—15 cm entwickelt, die am 5. August eine Größe von 16—67 cm erreicht hatten; nur noch ein kleiner Trieb von 10 cm Länge war nachgewachsen. Das Virus ließ sich in dem kleinsten infizierten Stengel nachweisen, und zwar nur in den Spitzenblättern, die wegen ihrer geringen Größe zu einem einzigen Presssaft verarbeitet werden mußten. Die Pflanze Nr. 23 hatte bei der Infektion 10 Triebe von 4—13 cm Länge gehabt, die jetzt auf 41—82 cm herangewachsen waren. Positiv reagierte nur das unterste, schon vergilbte Blatt eines 55 cm und die beiden untersten Blätter eines 78 cm langen Stengels. Die übrigen 66 Blattproben zeigten keine Reaktion. Die 10 Triebe der Pflanze Nr. 15 waren von 7—14 cm zur Zeit der Infektion auf 37—59 cm herangewachsen. Der Virusnachweis gelang nur in dem zweit- und drittuntersten Blatt eines 51 cm langen Sprosses; die übrigen 77 Proben waren negativ. Die Pflanze Nr. 20 zeigte schließlich überhaupt keine positive Reaktion.

Eine etwas stärkere Durchdringung wurde nur bei einer einzigen Pflanze festgestellt. Sie hatte am 14. Juli sechs Triebe ausgebildet, von denen bei

dreien mit einer Größe von 39, 38 und 42 cm alle Blätter mit Virus eingerieben worden waren. Die infizierten Triebe waren am 26. August ungefähr 50 cm lang. Stengel I hatte zu dieser Zeit 7 Blätter entwickelt, von denen das unterste und die drei obersten positiv reagierten. Stengel II ließ das Virus nur in den beiden obersten Blättern erkennen, während es in allen 6 Blättern des dritten Triebes zu finden war; allerdings waren die Reaktionen des vierten und fünften Blattes fraglich.

Um den Einwänden zu begegnen, daß die Viruskonzentration gegebenenfalls in kranken Flava-Pflanzen überhaupt nicht so stark sei, daß sie serologisch sicher erfaßt werden und zum anderen der Termin für die Prüfungen vielleicht zu spät gewählt sei, wurden nach Abschluß der vorgenannten Untersuchungen einige sekundär kranke Freiland-Flava-Pflanzen geprüft, die im letzten Drittel des April ausgelegt und also noch älter waren. Sie befanden sich schon in der Abreife und waren übrigens z. T. noch weit größer als die Gewächshauspflanzen. In ihnen ließ sich das Virus in sämtlichen Blättern nachweisen.

Zur weiteren Sicherung der Ergebnisse waren bei 35 Pflanzen die serologisch untersuchten Blattpressäfte gleichzeitig auf Tabak der Sorte „Samsun“ abgerieben worden, um auf diese Weise vielleicht geringere Konzentrationen zu fassen, die serologisch nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Die Tabakpflanzen wurden ebenfalls noch serologisch auf maskiertes Virus geprüft. Da uns hier nur die Flavapressäfte interessieren, die keine serologische Reaktion ergeben hatten, sei auch nur auf sie eingegangen. Von 174 Säften erwiesen sich auch im Tabaktest 158 als virusfrei. Wenn diese Zahl ebenfalls nicht absolut genommen werden darf, da auch nach dieser Methode sicherlich nicht jede Infektion nachgewiesen werden kann, so stützt sie doch weitgehend das Ergebnis der serologischen Kartoffellaubprüfung.

Als letztes wurde schließlich noch zur Kontrolle ein Teil der geernteten Knollen im Nachbau untersucht, um festzustellen, ob das Virus vielleicht doch in größerem Maße in diese eingedrungen sei als nach den Laubprüfungen zu erwarten war. Und zwar wurden 104 Knollen von 14 Pflanzen ausgelegt, die in einem oder auch mehreren Blättern auf Grund der serologischen Prüfung das Virus enthalten hatten, und weitere 47 Knollen von 7 Pflanzen, die zwar mit dem Virus eingerieben worden waren, aber keine positive Reaktion ergeben hatten. Die serologischen Untersuchungen wurden am Laub des Nachbaus vorgenommen. Sie bestätigten weiterhin eindeutig die früheren Befunde, indem bei 11 von den ersten 14 Pflanzen überhaupt keine kranke Knolle gefunden wurde und sich bei den übrigen 3 Pflanzen von insgesamt 29 Knollen auch nur 6 als infiziert erwiesen. Von den 47 Knollen der letzten 7 Pflanzen, bei denen im Sommer die Prüfung vollkommen negativ ausgefallen war, zeigten sich alle gesund bis auf eine, bei der das Ergebnis nicht eindeutig war. Von insgesamt 151 Knollen des Nachbaus waren also nur 6 eindeutig krank.

Besprechung

Von den eingangs erwähnten zwei Zielen der Untersuchungen: 1. Beobachtungen über das Verhalten des X-Virus in der Kartoffelpflanze zu sammeln und 2. die Leistungsfähigkeit der serologischen Methode in dieser Hin-

sicht zu prüfen, konnte das zweite nur zu einem Teil erreicht werden. Es darf zwar nach den vorliegenden Ergebnissen angenommen werden, daß es bei sekundär kranken Pflanzen weitgehend gelingt, einen Überblick über die Virusverteilung zu gewinnen, ohne allerdings einen absoluten Maßstab anlegen zu können. So ist durchaus anzunehmen, daß das Virus in den jungen Erstling-Pflanzen, die nur wenige Zentimeter groß waren, und in denen es serologisch nicht nachgewiesen werden konnte, trotzdem vorhanden war. Darauf weisen in anderem Zusammenhang unternommene Versuche mit Dunkelkeimen dieser Sorte hin. Läßt man nämlich „Erstling“-Knollen im Dunkeln unter Bedingungen keimen, die einen serologischen Nachweis des Virus in den Keimen nur zum Teil gestatten und zieht aus solchen isolierten Keimen, d. h. ohne die geringsten Teile von Knollengewebe, Pflanzen heran, so sind diese trotzdem vollkommen verseucht. Diese Einschränkung vermag aber nicht den Wert und die Vorzüge der serologischen Methode zu schmälern, zumal ein absoluter Nachweis mit keiner Methode erreicht werden kann. Selbst wenn man in der Ultrazentrifuge das Virus aus einem Preßsaft quantitativ ausschleudert, lassen sich zwar die im Saft vorhandenen Mengen nachweisen, man erfaßt aber nicht das Virus, das bei der Herstellung des Preßsaftes zu einem nicht geringen Teil in den Blattrückständen bleibt.

Bezüglich des Nachweises von Primärerkrankungen konnte der Wert der serologischen Methode noch nicht, wie ursprünglich beabsichtigt, geprüft werden. Auf die Gründe dafür wird noch weiter unten eingegangen.

Die Ausbreitung des X-Virus in der Sorte Erstling geht offenbar nicht immer so schnell vor sich, als daß der Krankheitsstoff bei sehr jungen Pflanzen sowohl im Freiland wie auch im Gewächshaus hätte sicher nachgewiesen werden können. Bekanntlich liegt das Virus in der Kartoffelknolle in verhältnismäßig schwacher Konzentration vor [Köhler (3)], und die in den jungen Sproß einströmenden Mengen genügten im vorliegenden Fall offenbar nicht für den Nachweis. Dieser wurde anscheinend erst ermöglicht, nachdem sich das Virus im Sproß entsprechend vermehrt hatte.

Eine Mindestlänge des Stengels war für den Nachweis nicht von besonderer Wichtigkeit, wohl aber das Alter der ganzen Pflanze; denn sonst wäre es nicht verständlich, daß das Virus in jungen Pflanzen bei einer gewissen Sproßgröße nicht faßbar war, während es bei kleineren, also jüngeren Trieben älterer Pflanzen gefunden wurde. Ob bzw. welche Korrelationen dabei eine Rolle spielen, kann natürlich nicht gesagt werden. Im übrigen war bei den Freilandpflanzen das Virus schon verhältnismäßig früh in allen Blättern nachzuweisen, wenn es auch nicht immer in den Spitzenblättern zu finden war. Bei den Gewächshauspflanzen war die Situation ein wenig anders. Zwar ließ es sich bei ihnen zunächst auch weitgehend, bei späteren Prüfungen aber nur in den unteren Blättern nachweisen. In wenigen Tagen trat dann Ende Juli wieder ein Umschwung ein, und am 30. Juli war das Virus in allen Blättern in so starkem Maße vorhanden, daß ihre Preßsätze positive Reaktionen ergaben. Eine eindeutige Erklärung für dieses Verhalten läßt sich nicht geben, aber vielleicht sind doch einige Hinweise möglich. Zunächst ist festzustellen, daß die Pflanzen im Gewächshaus erheblich schneller wuchsen

und größer wurden als im Freiland und die Vermehrung des Virus vielleicht aus diesem Grunde nicht in dem Maße Schritt halten konnte, daß es sich nachweisen ließ. Dieser Gesichtspunkt kann allerdings nicht allein maßgebend sein, denn die endgültige Größe war schon zu einem Zeitpunkt erreicht, als das Virus noch nicht in die Spitzenblätter eingedrungen war. Vermutlich hat ebenfalls die niedrige Temperatur, die etwa bis zum 20. Juli anhielt und sich auch im Gewächshaus stark auswirkte, bei der Verzögerung der Virusvermehrung und -ausbreitung eine Rolle gespielt. (Das Temperaturmittel betrug, in Bodenhöhe gemessen, vom 1.—19. Juli etwa $15,6^{\circ}\text{C}$ und vom 20.—31. Juli rund $27,3^{\circ}\text{C}$!) Der Temperaturanstieg konnte sich bezüglich des Virusnachweises selbstverständlich nicht sogleich am ersten, sondern erst nach einigen Tagen bemerkbar machen. Ferner ist denkbar, daß auch Ernährungsfaktoren von Bedeutung waren, denn die in einem 20-cm-Tontopf enthaltene Erde reicht gewiß nicht zu einer völlig normalen Entwicklung aus.

Ohne unsere erst einjährigen Ergebnisse bei den Gewächshauspflanzen verallgemeinern zu wollen, muß gesagt werden, daß infolge der mehr oder weniger unnatürlichen Bedingungen gegenüber den Verhältnissen im Freiland quantitative Unterschiede auftreten können, die bei eventuellen Schlußfolgerungen berücksichtigt werden müssen.

Der einwandfreie Virusnachweis in völlig vergilbten Blättern ist erklärlich, wenn man bedenkt, daß das X-Virus als verhältnismäßig stabile Eiweißverbindung dem dissimilatorischen Stoffwechsel weitgehend widersteht. Da andererseits, wie schon betont wurde, der Virusgehalt der Kartoffelknolle verhältnismäßig gering ist, konnte man im übrigen auch von vornherein nicht damit rechnen, daß das Virus aus den Blättern in größerem Umfange in die Knolle transportiert würde. So erscheint das Ergebnis durchaus verständlich. Wie der abweichende Befund bei der Sorte Prisca — das Virus war in vergilbten Blättern nicht mehr zu finden — erklärt werden kann, bleibt vorläufig noch ungewiß.

Die Infektionsversuche an der Sorte „Flava“ sind im experimentellen Teil verhältnismäßig eingehend besprochen worden, obgleich sie nicht den ursprünglich erwarteten Verlauf nahmen. Es kam uns aber darauf an zu zeigen, daß das Ergebnis zumindest im wesentlichen nicht durch Mängel in der Methodik zustande gekommen ist, sondern auf andere Weise erklärt werden muß. Selbst wenn man zunächst annehmen wollte, daß die Infektion nicht in jedem Fall einwandfrei durchgeführt worden und der Nachweis deshalb in vielen Fällen nicht gelungen sei, so spricht doch eindeutig dagegen, daß das Virus in den wirklich infizierten Pflanzen nur sehr mangelhaft, oft nur an einem einzigen Blatt des geimpften Triebes, nachgewiesen werden konnte. Daß der Krankheitsstoff andererseits wirklich nur in so geringem Maße Fuß fassen konnte, wie die serologische Prüfung zeigte, wurde durch das Ergebnis von Abreibungen der Blattpressäfte auf Tabak sowie die Untersuchung von Nachbau bestätigt. Natürlich könnte man weiterhin annehmen, daß die Durchdringung, entsprechend den Ergebnissen bei der Sorte Erstling,

¹⁾ Berechnet nach Werten der Wetterwarte Braunschweig auf dem Gelände der B.Z.A.

durch die Gewächshausbedingungen verzögert wurde. Vor allem ist wohl zu berücksichtigen, daß die Pflanzen kein ganz normales Wachstum zeigten; die Stengel waren verhältnismäßig lang und die Blätter ziemlich klein. Aber dadurch allein können die Verhältnisse nicht erklärt werden. Bis zum Monat August hätte die Verzögerung nicht anhalten können. Ferner spricht ganz klar dagegen, daß gerade bei den später untersuchten Pflanzen das Virus noch weniger zu finden war als bei den jungen Exemplaren, und daß selbst in den Fällen, wo alle Blätter eines oder mehrerer Triebe beimpft worden waren, das Virus nur sehr schwach nachgewiesen wurde.¹⁾

Ähnliche Ergebnisse hat übrigens schon Köhler 1940 (4) bei Untersuchungen mit ganz anderer Fragestellung erhalten. Seine Versuche, durch Kartoffelpassagen bei den X-Stämmen **Us**, **Cs 36**, **Cs 37**, und **Bf** Mutationen auszulösen, zeigten bei mehreren Kartoffelsorten, daß die künstliche Infektion gesunder Pflanzen zwar zunächst gelang, daß aber das Virus nur in wenigen Fällen bis in die Knollen vordrang und in den Tochterpflanzen nachgewiesen werden konnte. Wenn es sich durchzusetzen vermochte, dann ging es verändert aus der Kartoffelpflanze hervor. Nur für den Stamm **Cs 37** gibt Köhler an, daß er die Kartoffelpassage unverändert überstand. Da aber die ersten Abreibungen auf Tabak nach der Kartoffelpassage im Vergleich zu einer Tabakkultur des Stammes sich etwas abweichend verhielt, kann man vermuten, daß auch dieser Stamm sich in der Kartoffelpflanze verändert hatte und nur bei der weiteren Kultur auf Tabak wieder zu seinem ursprünglichen Zustand zurückkehrte. Köhler spricht von einer reversiblen Nachwirkung. Schon bei früheren Versuchen im Jahre 1934 (2) hatte er festgestellt, daß die auf eine Kartoffelpassage unmittelbar folgende erste Tabakimpfung stets ein abweichendes Krankheitsbild lieferte²⁾.

Wieweit das Virus auch in den Fällen, in denen es sich nicht durchzusetzen vermochte, in der grünen Pflanze vordringen konnte, geht aus den Beobachtungen nicht hervor.

Wie lassen sich nun all diese Befunde erklären? Ohne der beabsichtigten weiteren experimentellen Bearbeitung (bei der auch etwaige spezifische Reaktionen verschiedener Kartoffelsorten geprüft werden müssen) vorgreifen zu wollen, scheint den bisher vorliegenden Tatsachen am ehesten die Annahme gerecht zu werden, daß das Kartoffel-X-Virus bei seiner Kultur auf dem Tabak eine solche Veränderung erfährt bzw. erfahren kann, daß es nur noch in sehr geringem Maße Kartoffelpflanzen zu infizieren vermag. Wenn aber eine durchgreifende Infektion gelingt, liegt es nach den Ergebnissen von Köhler

¹⁾ Köhler nimmt (briefliche Mitteilung vom 15. Februar 1949) als sicher an, daß der Stamm Cs 35 nicht mehr homogen ist und nach verschiedenen Richtungen mutierte. Er vermutet weiterhin, daß der Stamm nicht die natürliche Durchdringungsfähigkeit aufweist, wie sie von einem frisch von der Kartoffel isolierten gewöhnlichen X-Stamm erwartet werden kann.

²⁾ Köhler sieht (gleichfalls briefliche Mitteilung vom 15. Februar 1949) neuerdings diese Veränderung nicht mehr als Folge einer direkten Umprägung an, sondern als Folge einer bei der Passage eingetretenen Selektion, indem sich gewisse Komponenten eines Virusgemisches in den Vordergrund schoben. Im Jahre 1934 war noch wenig über die Variabilität der Viren bekannt, und es handelte sich seiner Ansicht nach damals nicht um homogene Stämme.

vielleicht daran, daß das Virusmolekül in seiner neuen Wirtspflanze eine Wandlung erfährt, die ihm seine Vermehrung und Ausbreitung gestattet. In einem Sammelbericht aus dem Jahre 1941 über Variabilität und Mutabilität beim Kartoffel-X- und Tabakmosaik-Virus hat Köhler (5) übrigens schon den gleichen Schluß aus seinen eben zitierten Ergebnissen gezogen. Er schreibt: „Der Stamm **Us** hat also auf dem veränderten Substrat eine Reihe von Varianten hervorgebracht, und nur den besonderen Eigenschaften dieser Varianten dürfte es zuzuschreiben sein, daß das Virus auf dem neuen Wirt erhalten geblieben ist“ (S. 320).

Daß die Übertragung des X-Virus auch bei der Kartoffelpflanze an sich verhältnismäßig einfach ist, zeigen am deutlichsten die Verhältnisse in der Natur, bei denen es bekanntlich ohne weiteres durch Berührung von einer kranken auf eine gesunde Pflanze derselben Sorte übertragen wird.

Für das Tabakmosaikvirus geht die Abhängigkeit vom Substrat aus Versuchen von Kausche und Stubbé (1) hervor. Bei Röntgenbestrahlungen von gesunden Pflanzen und nachheriger Beimpfung traten im Gegensatz zu den Kontrollen Varianten auf. Die Wirtspflanzen befanden sich also in einem derart veränderten Zustand, daß das Virus nicht zu einer vollkommen identischen Reproduktion in der Lage war.

Aus den eigenen Angaben wie aus der Literatur ergibt sich demnach, daß z. B. das X-Virus nicht immer als ein in seiner chemischen Zusammensetzung bzw. seiner Konfiguration völlig einheitliches Protein angesehen werden kann; es muß vielmehr zu einem Teil auch vom Stoffwechsel der jeweiligen Wirtspflanze abhängig sein. Aus dieser Erkenntnis ergibt sich die schon eingangs angedeutete Forderung, auch bei den theoretischen Fragen nach Natur und Eigenschaften der Kartoffelviren zu prüfen, wieweit Untersuchungen an Viren, die auf Tabak kultiviert werden, verallgemeinert und auf die natürlichen Verhältnisse übertragen werden dürfen.

Zusammenfassung

1. Mit Hilfe der Blättchenmethode (Antrocknung von Seren an Papier), deren Brauchbarkeit weiterhin erhärtet wurde, ließ sich die Ausbreitung des X-Virus in sekundär kranken Kartoffelpflanzen gut verfolgen.
2. Das Virus konnte in sehr jungen Pflanzen der Sorte Erstling sowohl im Freiland wie auch im Gewächshaus noch nicht festgestellt werden. Ausschlaggebend war nicht eine Mindestgröße der Stengel, sondern das Alter der Pflanzen.
3. Bei Freilandpflanzen war das Virus bald in allen Blättern in einem solchen Maße vorhanden, daß es serologisch nachgewiesen werden konnte, eine Ausnahme bildeten zum Teil nur Spitzblätter.
4. Gewächshauskulturen zeigten dagegen zeitweise eine Verzögerung in der Durchdringung, so daß das Virus im wesentlichen nur in den unteren Blättern gefunden wurde. Später war auch bei diesen Pflanzen die Durchdringung vollständig.
5. Erstlingspflanzen, die sich in der Abreife befanden, ließen selbst bei vergilbten Blättern einen einwandfreien Virusnachweis zu, während bei

- der Sorte Prisca die Blätter in diesem Stadium keine Virusreaktion mehr zeigten.
6. Die Frage der Durchdringung nach Primärerkrankung ließ sich durch Infektion von gesunden Pflanzen der Sorte Flava mit dem auf Tabak gezüchteten Stamm **Cs 35** nicht prüfen, weil das Virus nur in sehr geringem Grade Fuß fassen konnte.
 7. Dieser Tatsache scheint am besten die Annahme gerecht zu werden, daß das Virus auf Tabak und Kartoffel nicht voll identisch ist.

Schriftenverzeichnis

- 1 Kausche, G. A. und Stubbe, H. Zur Frage der Entstehung röntgenstrahlinduzierter Mutationen beim Tabakmosaikvirusprotein. *Die Naturwiss.* 28 Jhg., 824, 1940.
- 2 Köhler, E. Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel. III. Weitere Versuche mit Viren aus der Mosaikgruppe. *Phytopath. Zeitschr.* 7, 1—30, 1934.
- 3 Köhler, E. Fortgeführte Untersuchungen mit verschiedenen Stämmen des X-Virus in der Kartoffel (Ringmosaikvirus). *Phytopath. Zeitschr.* 10, 31—41, 1937.
- 4 Köhler, E. Über die mutationsauslösende Wirkung von Kartoffelpassagen auf verschiedene nekrotische Stämme des X-Virus. *Zentralblatt f. Bakt.* II. Abt. 102, 100—110, 1940.
- 5 Köhler, E. Über die Variabilität und Mutabilität pflanzenpathogener Virusarten, dargestellt am Kartoffel-X-Virus und am Tabakmosaikvirus (Sammelbericht). *Biol. Zentralblatt* 61, 298—328, 1941.
- 6 Stapp, C. Die serologische Virusdiagnose und ihre Bedeutung für den Kartoffelbau. Mitteilungen aus der Biologischen Reichsanstalt Heft 67, 6—30, Okt. 1943.
- 7 Stapp, C. und Bercks, R. Über weitere Antrocknungsversuche mit Seren gegen Kartoffelviren. *Phytopath. Zeitschr.* 15, Heft 1, 47—53, 1948.

*Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich*

Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Entwicklung und den Schorfbefall der Kartoffelknollen

Von

Ernst Gäumann und Ernst Häfliger¹⁾

Mit 17 Abbildungen

Inhalt: 1. Die Versuchsmethode. — 2. Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Laub- und Knollenertrag. — 3. Der Einfluß der Bodentemperatur auf die histologischen Verhältnisse der Kartoffelknolle. — 4. Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Glukose- und Stärkegehalt der Kartoffelknolle. — 5. Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Qualität der Stärke: a) Die Größe der Stärkekörner; b) Die Resistenz gegenüber Säure; c) Die Quellungs-temperatur; d) Die Jodreaktion. 6. Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Schorfbefall: a) Die Temperaturansprüche des Erregers; b) Die Infektionsversuche. — 7. Zusammenfassung. — Schrifttum.

¹⁾ Die Arbeit war 1944 für Band 15, Heft 1, vorgesehen und wurde damals als Sonderdruck herausgegeben. Der Satz des betr. Heftes fiel jedoch einem Luftangriff zum Opfer, so daß das Heft damals nicht erscheinen konnte. Wir drucken deshalb die Arbeit nochmals ab.

Untersuchungen über den Einfluß der Bodentemperatur auf die Entwicklung der Kartoffeln und über ihren Schorfbefall, verursacht durch *Actinomyces scabies* (Thaxter) Güssow, sind schon verschiedentlich durchgeführt und z. B. von Wollenweber (1932) und Roemer, Fuchs und Isenbeck (1938) zusammengefaßt worden. Der Erreger soll bei 8° C in seinem Wachstum stocken, dagegen bis 38° C gut gedeihen. Das Optimum für den Befall der Kartoffelknollen soll zwischen 25 und 28° C liegen.

Verschiedene Feldbeobachtungen unter schweizerischen Verhältnissen ließen jedoch Zweifel aufsteigen, ob diese Angaben wirklich allgemeingültig sind und ob nicht Gebirgsländer wie die Schweiz mit anderen Rassen des Parasiten zu rechnen haben. In einer ähnlichen Richtung liegen die Erfahrungen beim echten Hausschwamm, *Merulius domesticus*. Die meisten Stämme zeigen ein Wachstumsminimum bei 3° C und ein Optimum bei 18—22° C; doch wurde in der Schweiz eine Hausschwammmasse festgestellt, deren Kulturen noch bei +0,1° C in 15 Tagen einen Durchmesser von 28 mm erreichten; diese Rasse kann z. B. in den Holzverschalungen von Kühlkellern beträchtliche Schäden anrichten (Gäumann, 1940). Deshalb wurden mit schorfkrankem Material aus schweizerischen Berglagen einige Versuche eingeleitet und zu gleicher Zeit eine Reihe von Beobachtungen über den Einfluß der Bodentemperatur auf die Kartoffelknollen selbst angestellt.

1. Die Versuchsmethode

Als Infektionsmethode wurde die spontane Infektion bei konstanter Bodentemperatur verwendet, ausgehend von vorerkranktem Pflanzgut. Dieses stammte aus einer virusfreien Berglage (Nante) und wurde uns von Herrn Kollegen A. Volkart zur Verfügung gestellt. Aus der Ernte des Jahres 1941 wurde stark schorfkarkenes Saatgut mittlerer Größe der Sorte Bintje und aus der Ernte des Jahres 1942 der Sorte Ideaal ausgelesen und in Torfmull kühl überwintern. Durchschnittliches Knollengewicht 60—70 g.

Unsere Versuchseinrichtung und Arbeitsmethode für konstante Bodentemperaturen sind bei Gäumann und Riethmann (1938) beschrieben. Versuchserde: Toniger Lehm mit 3,9% Humus. Reaktion pH 7,0. Nährstoffgehalt: 0,17% N, 0,05% P₂O₅, 0,09% K₂O, 0,49% CaO, 0,66% MgO. Düngung je Kubikmeter gesiebte Erde 3 kg Volldünger Lonzin, der uns von der Lonza A. G. in Basel übermittelt wurde und 16% wasserlösliche Phosphorsäure, 17% N und 21% Kali enthielt. Die Nährstoffgabe je Kilogramm Erde betrug somit 0,48 g Phosphorsäure, 0,51 g N und 0,63 g Kali.

Als Pflanzgut können nur frühe (z. B. Bintje) oder mittelspäte Sorten (z. B. Ideaal) verwendet werden; spätreife Sorten setzen unter unseren Versuchsbedingungen nur ungenügend Knollen an. In dieser Hinsicht tritt schon die Sorte Ideaal wegen ihrer langsameren Entwicklung stark hinter Bintje zurück (vgl. Tabellen 1—3). Im Jahre 1942 wurde eine Versuchsreihe (11 Temperaturstufen zu je 10 Töpfen) mit der Sorte Bintje ausgeführt, im Jahr 1943 in zwei nebeneinander liegenden Räumen zwei Versuchsreihen zu je 11 Temperaturstufen mit je 10 Töpfen mit der Sorte Ideaal.

Beginn der Vorkeimung am 23. Februar 1942 bzw. am 20. Februar 1943. Am 14. März 1942 bzw. am 12. März 1943 wurden die Knollen mit gut entwickelten Keimen in die Versuchstöpfe in je 2 kg Grunderde gepflanzt, je eine Knolle je Topf. Bis zum Durchbrechen der Triebe (2. April 1942 bzw. 5. April 1943) wurden die Töpfe bzw. Tröge bei Gewächshaus temperatur gehalten (rund 15° C); erst dann wurden die Versuchströge auf ihre unterschiedliche Temperatur geschaltet. Am 5. Mai 1942 bzw. am 3. Mai 1943 wurden statt des Anhäufelns je 2 kg Deckerde je Topf eingebracht. Wassergabe je nach Bedarf täglich zum konstanten Gewicht. Nachdüngung in der ersten Hälfte Juni mit 5 g Lonzin je Topf (d. h. je Staude), Ende Juni und Mitte Juli mit je 5 g Lonza-Volldünger, enthaltend 12% Phosphorsäure (wovon 85% wasserlöslich), 9% Salpeterstickstoff, 12% Kali und 18% Kalk.

Schädlingsbekämpfung ab Ende Mai alle 2—3 Wochen durch Bespritzen mit 0,5% Cupromaag (einem Kupferkarbonat) + 0,2% Deril (einem Derrispräparat) gegen Pilzkrankheiten (insbesondere *Phytophthora* und *Alternaria*) und Blattläuse. Die Versuchspflanzen standen die ganze Zeit gesund und kräftig da und blieben virusfrei.

Ernte am 15. August 1942 bzw. am 23. August 1943.

2. Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Laub- und Knollenertrag

Systematische Versuche über den Einfluß der Bodentemperatur auf den Laub- und Knollenertrag scheinen bei Kartoffeln noch nicht durchgeführt worden zu sein; einige zerstreute Angaben finden sich bei Stuart (1928) zusammengestellt. Dagegen bestehen z. B. Untersuchungen von Müller und Griesinger (1942) über den Einfluß der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Kartoffelknollen gegen *Phytophthora infestans*; aus ihnen geht hervor, daß die nekrotischen Reaktionen schon bei einer Temperatur von 5° C einsetzen und von 12—26° C in optimaler Geschwindigkeit verlaufen; sie sind somit, nachdem einmal eine untere Temperaturschwelle überschritten ist, wenig temperaturempfindlich.

In unsern Versuchen erwies sich der Einfluß der Bodentemperatur im Bereich von 8—34° C auf die Entwicklung des Krautes (Stengel + Laubblätter) als erstaunlich gering. Was zunächst die Triebhöhe, das Längenwachstum der Sprosse, betrifft, so wurden am 12. Juni 1942 bei sämtlichen Stauden der Sorte Bintje die Länge aller Sprosse gemessen (Tabelle 1, Spalte 2). Nach einem langsamem Anstieg von 9—13° C bleibt die mittlere Triebänge von 15—31° C auffallend konstant und zeigt erst bei 34° C einen kleinen Abfall (siehe Tabelle 1, S. 88).

Denselben Eindruck vermittelt die in jenem Zeitpunkt aufgenommene Abb. 1. Beim Trog K wurde zur Kontrolle die Temperatur nicht reguliert, so daß sie jeweils mit der Raumtemperatur schwankte; die Abbildung läßt erkennen (und dasselbe ist bei den zwei anderen Versuchsreihen der Fall), daß schwankende Bodentemperaturen im üblichen Temperaturbereich der Vegetationszeit den Kartoffelpflanzen besser zusagen als die konstanten Temperaturen unserer Versuchsanordnung, selbst wenn diese konstanten Temperaturen optimal gestaltet werden.

Tabelle 1
Der Einfluß der Bodentemperatur
auf den Ertrag und den Schorfbefall der Kartoffelsorte Bintje

Boden-tempe-ratur	Mittlere Länge der Triebe am	Mittleres Trocken-gewicht des Krautes je Staude	Kartoffeln je Staude		Durch-schnitt-lisches Knollen-gewicht	Durch-schnitt-lische Zahl der Kin-del je Staude	Kranke Kartoffeln je Staude	
	12. Juni	je Staude	Durch-schnitt-liche Zahl	Mittlerer Knollenertrag g			Durch-schnitt-liche Zahl	Durch-schnittlich erkrankte Fläche mm ²
	°C	cm	g	g			mm ²	
9,3	54 ± 3	43,7 ± 0,9	11,6	175,3 ± 19,0	15,1	0	0	0
10,1	80 ± 3	41,4 ± 0,9	14,4	327,7 ± 13,0	22,7	0	2,7	67,6
13,3	83 ± 1	38,9 ± 0,9	15,2	605,1 ± 21,0	39,8	0	6,3	67,5
15,2	96 ± 3	42,1 ± 2,7	12,8	610,0 ± 29,0	47,6	0	2,5	70,1
18,1	106 ± 2	42,3 ± 0,9	13,7	617,0 ± 22,0	45,0	0,7	2,2	42,1
20,9	104 ± 3	41,7 ± 1,8	14,1	563,9 ± 21,0	39,9	1,1	2,2	17,5
22,8	103 ± 2	51,5 ± 0,9	14,2	497,3 ± 34,0	35,0	2,0	3,0	82,5
26,2	103 ± 2	49,6 ± 0,9	17,3	545,4 ± 33,0	31,5	3,9	0,2	5,0
28,6	110 ± 3	73,1 ± 1,8	5,9	71,0 ± 1,9	12,0	1,5	0,1	0,8
30,9	109 ± 2	69,2 ± 1,8	5,5	64,0 ± 1,1	11,6	0,7	0	0
34,4	99 ± 2	37,6 ± 3,6	7,6	44,4 ± 1,4	5,8	1,7	0	0



Abb. 1
Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Entwicklung des Krautes der Kartoffelsorte Bintje.
(Erklärung im Text)

Eine ähnliche Ausgeglichenheit wie die Länge der Triebe zeigt das Trockengewicht des Krautes. Um dieses zu bestimmen, wurde im August bei der Ernte das Kraut jedes Versuchstopfes gesondert gewonnen, zur Lufttrockenheit getrocknet und gewogen. Hernach wurde an drei Durchschnittsproben die Trockensubstanz bestimmt (Tabelle 1, dritte Spalte: Mittleres Trockengewicht des Krautes je Staude).

Im gesamten Bodentemperaturbereich von 8—27° C ist der Krautertrag bei allen drei Versuchsreihen praktisch gesprochen gleich groß (Abb. 2). Er ist also weitgehend von der Bodentemperatur unabhängig und wird offensichtlich nur von der Lufttemperatur gesteuert.

Die Depression, die im Juni in Abb. 1 bei den Bodentemperaturen von 9—13° C noch zu erkennen war, ist nunmehr bis zur Ernte völlig aufgeholt worden. Anderseits zeigt der Krautertrag bei allen drei Versuchsreihen bei der Bodentemperatur von rund 29° C eine plötzliche, rechnerisch sichergestellte Steigerung; hier wächst das Kraut nahezu ebenso üppig wie in der Kontrolle K bei der mit der Raumtemperatur schwankenden Bodentemperatur; es kann sich hier kaum um einen Zufall handeln; doch steht die Erklärung noch aus. Die Bodentemperatur von rund 34° C lieferte in allen drei Versuchsreihen einen deutlich geringeren Krautertrag; diese Temperatur liegt somit nahe dem Temperaturmaximum.

Im Gegensatz zum Kraut lässt die Zahl und das Gewicht der Knollen einige Beziehungen zur Bodentemperatur erkennen. Was zunächst den Knollenansatz (durchschnittliche Zahl der Knollen je Staude) betrifft, so scheint das Temperaturopimum sehr breit zu verlaufen, jedoch verhältnismäßig tief zu liegen. Die Sorte Bintje lieferte zwischen 9 und 26° C optimale Knollenzahlen (Tabelle 1), die Sorte Ideaal zwischen 12 und 26° C (Tabelle 2 und 3). Der Knollenansatz ist somit wenig temperaturempfindlich. Erst oberhalb der Bodentemperatur von 26° C zeigen beide Sorten einen deutlichen Leistungsabfall.

Erheblich stärker als der Knollenansatz ist die Knollengröße (das durchschnittliche Knollengewicht) an die Bodentemperatur gebunden (Abb. 3). Die frühe Sorte Bintje zeigt ein Optimum zwischen 13 und 26° C mit einem deutlichen Gipfel bei 15—18° C, die mittelspäte Sorte Ideaal ein breites Optimum zwischen 15 und 26° C, in beiden Versuchen mit einer Bevorzugung

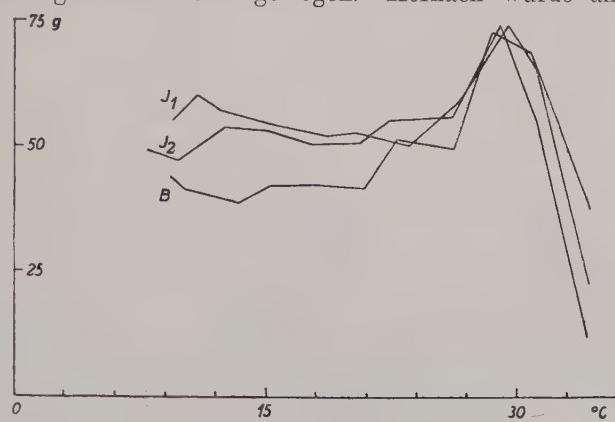


Abb. 2
Der Einfluß der Bodentemperatur auf das Trockengewicht des Krautes bei den Kartoffelsorten Bintje (Kurve B) und Ideal (Kurven J)

Tabelle 2
Der Einfluß der Bodentemperatur
auf den Ertrag und den Schorfbefall der Kartoffelsorte Ideal (Versuch 2)

Boden-temperatur °C	Mittleres Trocken- gewicht des Krautes je Staude g	Kartoffeln je Staude		Durch- schnitt- liches Knollen- gewicht g	Durch- schnittliche Zahl der Kindel je Staude	Kranke Kartoffeln je Staude	
		Durch- schnitt- liche Zahl	Mittlerer Knollenertrag g			Durch- schnitt- liche Zahl	Durch- schnittlich erkrankte Fläche mm ²
9,5	55,2 ± 3,6	4,1	35,2 ± 9,0	8,5	0	0	0
10,9	60,1 ± 0,9	8,2	94,9 ± 11,0	11,5	0	0	0
12,3	57,0 ± 2,7	12,3	189,5 ± 11,0	15,4	0,2	1,9	151,9
15,1	54,6 ± 2,7	13,6	379,6 ± 17,0	27,9	1,3	2,8	71,7
18,7	52,4 ± 3,6	12,7	306,1 ± 19,0	24,1	1,4	1,4	71,0
20,4	52,8 ± 3,6	8,7	285,2 ± 13,0	32,7	1,4	0,7	42,1
23,5	50,4 ± 1,8	10,7	345,1 ± 13,0	32,2	1,5	0,7	24,4
26,5	59,0 ± 0,9	8,7	287,4 ± 12,0	33,0	0,9	0,3	25,4
29,5	74,9 ± 1,8	3,3	56,8 ± 13,0	17,2	0,4	0	0
31,2	65,7 ± 3,6	3,6	47,2 ± 16,0	13,1	0,1	0	0
34,4	22,7 ± 1,8	1,0	10,5 ± 0,5	10,5	0	0	0

Tabelle 3
Der Einfluß der Bodentemperatur
auf den Ertrag und den Schorfbefall der Kartoffelsorte Ideal (Versuch 2)

Boden-temperatur °C	Mittleres Trocken- gewicht des Krautes je Staude g	Kartoffeln je Staude		Durch- schnitt- liches Knollen- gewicht g	Durch- schnittliche Zahl der Kindel je Staude	Kranke Kartoffeln je Staude	
		Durch- schnitt- liche Zahl	Mittlerer Knollenertrag g			Durch- schnitt- liche Zahl	Durch- schnittlich erkrankte Fläche mm ²
7,9	49,2 ± 3,6	4,0	46,8 ± 2,2	11,7	0	0	0
9,8	47,0 ± 1,8	5,4	81,2 ± 16,0	15,0	0	0	0
12,6	53,8 ± 1,8	12,8	243,9 ± 15,0	19,0	1,2	1,2	64,1
15,1	53,3 ± 2,7	13,0	288,0 ± 18,0	22,1	2,0	2,1	85,1
17,7	50,6 ± 1,8	10,4	250,7 ± 10,0	24,1	1,9	1,3	69,2
20,5	50,8 ± 1,8	9,6	291,3 ± 15,0	30,3	1,5	0,9	75,5
22,4	55,3 ± 2,7	11,2	343,8 ± 17,0	30,6	1,8	0,9	51,7
26,1	56,0 ± 3,6	7,7	280,5 ± 23,0	36,4	1,0	0,3	0,9
29,0	74,6 ± 2,7	3,8	49,1 ± 15,0	12,9	0,1	0	0
31,2	55,5 ± 3,6	2,3	24,1 ± 10,0	10,4	0	0	0
34,2	12,0 ± 1,8	0,9	14,0 ± 6,0	15,5	0	0	0

der Bodentemperaturen von 20—26 °C; doch wäre erst noch durch weitere Versuche zu prüfen, ob diese bevorzugten Bodentemperaturen (15—18 °C bei der Frühsorte, 20—26 °C bei der mittelpäten Sorte) wirklich unmittelbar mit der Reifezeit in Beziehung stehen; denn die Knollengröße blieb bei der Sorte Ideal, die sich wegen ihrer späteren Reifezeit weniger gut für Topfversuche eignet als die Sorte Bintje, durchwegs beträchtlich hinter dem kommerziellen Ausmaß zurück. Die Bodentemperaturen unter 12 °C und oberhalb 27 °C lieferten bei beiden Sorten Mikro-Kartoffelknollen mit Durchschnittsgewichten

von meist unter 20 g; diese Bodentemperaturen sind somit für die Ausbildung normaler Knollen nicht geeignet.

Die Form der Knollen ist nur insofern an die Bodentemperatur gebunden, als bei den Bodentemperaturen von 18—34° C bei der Sorte Bintje und von 12—31° C bei der Sorte Ideaal eine verhältnismäßig reichliche Kindelbildung auftrat, im stärksten Fall bis zu durchschnittlich 4 Kindel je Staude (Tabelle 1—3). Das Optimum für die Kindelbildung liegt bei der Sorte Bintje bei 21—29° C, bei der Sorte Ideaal bei 13—26° C, also bei beiden Sorten im Bereich des Temperaturoptimums für die Knollengröße, ohne sich jedoch mit diesem vollständig zu decken. Weitere Veränderungen der Knollengestalt durch die Bodentemperaturen wurden nicht beobachtet.

Stark von der Bodentemperatur abhängig ist endlich der gesamte Knollenertrag (Ernteertrag) je Staude; dies kann nicht überraschen, da ja das

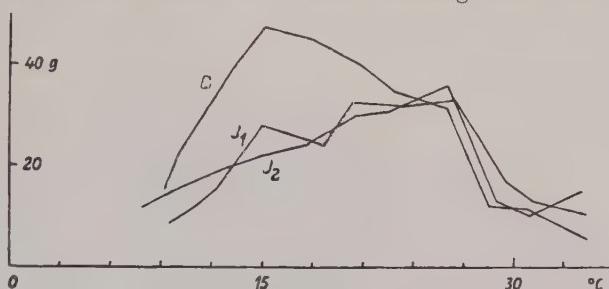


Abb. 3

Der Einfluß der Bodentemperatur auf das durchschnittliche Knollengewicht bei den Kartoffelsorten Bintje (Kurve B) und Ideaal (Kurven J)

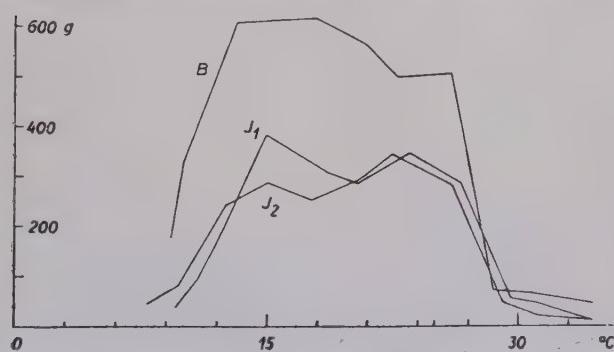


Abb. 4

Der Einfluß der Bodentemperatur auf den durchschnittlichen Knollenertrag je Staude bei den Kartoffelsorten Bintje (Kurve B) und Ideaal (Kurven J)

durchschnittliche Knollengewicht (Abb. 3) eine deutliche Temperaturbindung zeigt und auch der Knollenansatz eine, wenn auch schwächere, Beziehung zur Bodentemperatur erkennen läßt. Das Ertragsminimum liegt sowohl bei der Sorte Bintje als bei Ideaal flach zwischen den Bodentemperaturen von 13 und 26° C. Der Ernteertrag wird somit, nachdem

die Temperaturschwelle von 13° C überschritten ist, in einem verhältnismäßig breiten Bereich von der Bodentemperatur wenig beeinflußt.

Dennoch besteht zwischen der Entwicklung des Krautes und dem Knollenertrag eine auffallende Diskrepanz. Das Kartoffelkraut ist im Bereich der Bodentemperaturen von 9—31° C vollkommen temperaturtolerant und entwickelt sich im Hochsommer, nach Überwinden einer gewissen Anlaufzeit, bei allen Bodentemperaturen in derselben Üppigkeit. Die assimilierende

Blattmasse ist somit bei allen Bodentemperaturen gleich groß, und auch ihre assimilatorische Leistung dürfte im ganzen Temperaturbereich gleich groß sein. Verschieden ist jedoch der Anteil an Assimilaten, der für die Nährstoffspeicherung in den Knollen abgezweigt wird. Bei den Bodentemperaturen unterhalb 13°C und oberhalb 26°C wird nur ein kleiner Bruchteil der Assimilate in Form von Stärke in den Knollen gespeichert; der größere Teil verschwindet und wird offenbar in den ober- und unterirdischen Teilen der Stauden veratmet.

3. Der Einfluß der Bodentemperatur auf die histologischen Verhältnisse der Kartoffelknolle

Die bei verschiedenen Bodentemperaturen gewachsenen Kartoffelknollen unterscheiden sich schon rein äußerlich und fühlen sich auch verschieden an. Es müssen somit Unterschiede im histologischen Bau der Oberflächenschicht vorliegen. Darüber gaben mikroskopische Untersuchungen Aufschluß. Von jeder Temperaturstufe der Sorte Bintje wurden während der Ernte einige Rindenstücke mit dem Gemisch von Nawaschin fixiert und später mittels Mikrotomtechnik untersucht. Dabei zeigte sich, daß dieses Gemisch zwar für histologische Zwecke ein gutes Fixiermittel ist, indem es die Gewebe weder schrumpfen noch quellen läßt; dagegen wird unter dem Einfluß der Chromsäure die Stärke zum Teil korrodiert und gelöst. Daher wurden im folgenden Jahre bei der Ernte der Sorte Ideaal die entsprechenden Proben mit 70 prozent. Alkohol fixiert. Dieser greift die Stärke nicht an, hat aber den Nachteil, das Gewebe etwas schrumpfen zu lassen. Wo bei den histologischen und mikrochemischen Untersuchungen von der Sorte Ideaal gesprochen wird, ist stets die Versuchsreihe 2 (Tabelle 3) gemeint.

Die histologischen Untersuchungen erstrecken sich auf das Periderm und die darunterliegende primäre Rinde (Tabelle 4).

Tabelle 4
Der Einfluß der Bodentemperatur
auf die histologischen Verhältnisse der Kartoffelknollen

Boden- tem- peratur °C	Sorte Bintje			Sorte Ideaal			
	Periderm		Stärkefreie Schicht der primären Rinde μ	Boden- tem- peratur °C	Periderm		Stärkefreie Schicht der primären Rinde μ
	Dicke μ	Zahl der Zellagen			Dicke μ	Zahl der Zellagen	
9,3	144	9,8	90	7,9	88	10,0	46
10,1	144	9,8	88	9,8	88	9,0	38
13,3	132	10,0	88	12,6	84	9,0	50
15,2	125	9,1	50	15,1	84	8,8	47
18,1	85	7,5	73	17,7	84	9,1	64
20,9	96	7,6	85	20,5	80	9,4	94
22,8	120	9,6	80	22,4	76	9,0	95
26,2	130	9,7	90	26,1	86	9,8	95
28,6	140	10,5	232	29,0	90	11,9	100
31,0	152	10,5	270	31,2	90	12,0	160
34,4	156	11,1	296	34,2	100	12,9	> 1000

Die Dicke des Periderms der Sorte Ideal wird von der Bodentemperatur nur wenig beeinflußt (Abb. 5). Der durchschnittliche Wert von 80—90 μ wird höchstens bei der oberen Grenze der Bodentemperatur ein wenig überschritten. Bei der Sorte Bintje liegen die Verhältnisse anders: Das Periderm hat hier bei der Bodentemperatur von 18—20°C seine minimale Mächtigkeit von rund 90 μ ; es wird um so dicker, je mehr man sich von dieser optimalen Temperatur nach oben oder unten entfernt. Bei der oberen Wachstumsgrenze mißt es rund 150 μ . Gleichgültig ob diese Dickenzunahme erfolgt oder nicht, erfahren beide Sorten bei den hohen Bodentemperaturen eine Vermehrung der Zahl der Zelllagen des Periderms: Während bei der Bodentemperatur von 18°C das Periderm der Sorte Ideal aus rund 9 Zelllagen besteht, sind es bei 34°C deren 13 (Abb. 6). Die Sorte Bintje zeigt diesbezüglich, wenn auch weniger deutlich, ein ähnliches Verhalten. Das Periderm besteht hier zwischen den Bodentemperaturen von 10 und 23°C aus 7—10 Zelllagen. Diese Zahl steigt bei höheren Temperaturen auf durchschnittlich 11.

Unter dem Phellogen, dem Bildungsgewebe des Periderms, folgt die primäre Rinde, die bei den Kartoffelknollen ein Speichergewebe für Stärke ist. Dieses Gewebe zeigt den Einfluß der Bodentemperatur noch deutlicher als das Periderm. Die äußersten Zellen gegen das Phellogen hin sind stärkefrei. Die Stärkeeinlagerung beginnt erst in einem bestimmten Abstand vom Phellogen. Dadurch entsteht eine stärkefreie Schicht der primären Rinde (Abb. 7). Ihre Dicke wird bei beiden Sorten von tiefen und mittleren Bodentemperaturen praktisch nicht beeinflußt; oberhalb der Bodentemperatur von 26 bzw. 28°C steigt sie aber rasch von unter 100 auf über 250 μ an und kann bei der oberen Wachstumsgrenze die ganze Kartoffelknolle

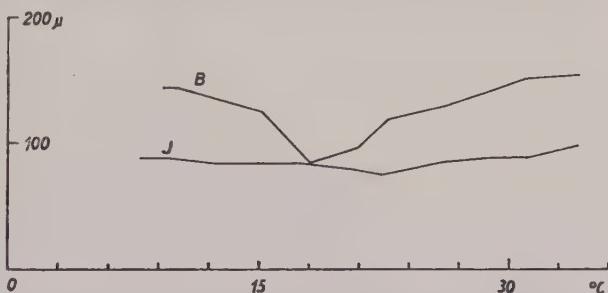


Abb. 5

Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Dicke des Periderms bei den Kartoffelsorten Bintje (Kurve B) und Ideal (Kurve J)

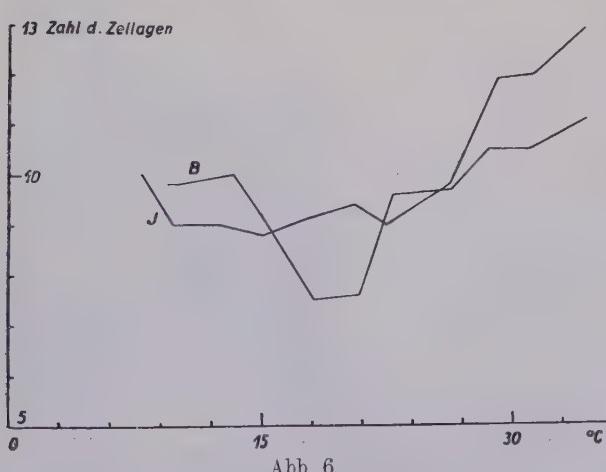


Abb. 6

Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Anzahl der Zelllagen im Periderm bei den Kartoffelsorten Bintje (Kurve B) und Ideal (Kurve J)

Unter dem Phellogen, dem Bildungsgewebe des Periderms, folgt die primäre Rinde, die bei den Kartoffelknollen ein Speichergewebe für Stärke ist. Dieses Gewebe zeigt den Einfluß der Bodentemperatur noch deutlicher als das Periderm. Die äußersten Zellen gegen das Phellogen hin sind stärkefrei. Die Stärkeeinlagerung beginnt erst in einem bestimmten Abstand vom Phellogen. Dadurch entsteht eine stärkefreie Schicht der primären Rinde (Abb. 7). Ihre Dicke wird bei beiden Sorten von tiefen und mittleren Bodentemperaturen praktisch nicht beeinflußt; oberhalb der Bodentemperatur von 26 bzw. 28°C steigt sie aber rasch von unter 100 auf über 250 μ an und kann bei der oberen Wachstumsgrenze die ganze Kartoffelknolle

erfassen. Bei 34°C sind nämlich die Kartoffelknollen der Sorte Ideaal praktisch stärkefrei.

Die Abb. 8 zeigt einen schematischen Radialschnitt durch die peripheren Schichten der Knollen der Sorte Bintje bei verschiedenen Bodentemperaturen.

4. Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Glukose- und Stärkegehalt der Kartoffelknollen

Die Untersuchung der Mikrotomschnitte, die in erster Linie die histologischen Verhältnisse der Kartoffelrinde aufklären sollte, ließ vermuten, daß zwischen den bei verschiedenen Bodentemperaturen gewachsenen Kartoffelknollen beträchtliche Unterschiede chemischer Natur vorkommen. Es wurden daher eine Reihe quantitativer Glukose- und Stärkebestimmungen bei Kartoffelknollen der Sorte Ideaal ausgeführt. Bei den extremen Bodentemperaturen war jedoch der Knollenertrag so klein, daß er nicht immer für alle Analysen ausreichte.

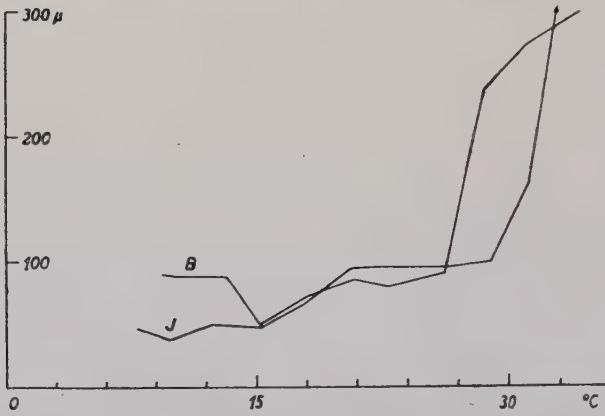


Abb. 7

Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Dicke der stärkefreien Schicht der primären Rinde bei den Kartoffelknollen der Sorten Bintje (Kurve B) und Ideaal (Kurve J)

doch der Knollenertrag so klein, daß er nicht immer für alle Analysen ausreichte.

a) Der Glukosegehalt

Methodik: Für die Glukoseanalyse diente der Preßsaft von frisch geernteten Kartoffelknollen. Er wurde auf dem Sandbad eingedickt, mit möglichst wenig Wasser aufgenommen und mit 96 prozent Alkohol versetzt, bis in der Kälte keine Dextrine mehr ausfielen. Darauf wurde zentrifugiert und in der Lösung nach der Mikromethode von Bertrand auf maßanalytischem Wege die Glukose bestimmt. Alle Analysen wurden doppelt ausgeführt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5, 2. Spalte und in Abb. 9 zusammengestellt. Aus ihnen geht hervor, daß die Glukose im Preßsaft der Kartoffelknollen nur in der

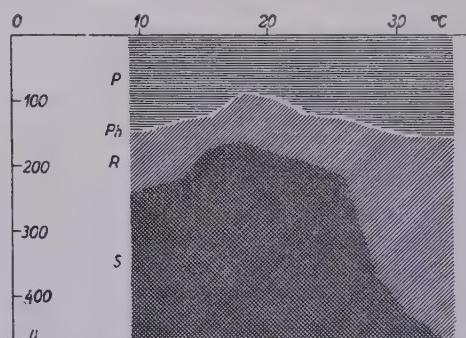


Abb. 8

Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Beschaffenheit der peripheren Schichten der Knollen Sorte Bintje. P = Periderm, Ph = Phellogen, R = stärkefrei und S = stärkeführende primäre Rinde

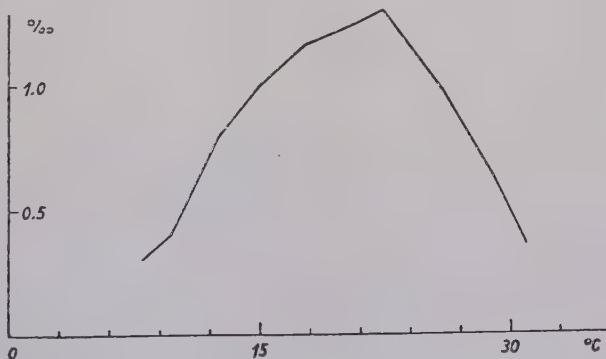
Größenordnung von $\%$ vorkommt, daß aber ihre Menge sehr deutlich von der Bodentemperatur abhängig ist.

Tabelle 5
Der Einfluß der Bodentemperatur
auf die Qualität der Kartoffelknollen und der Stärke der Sorte Ideal

Boden-temperatur $^{\circ}\text{C}$	Glukose-gehalt des Zellsaftes der Kartoffel- knollen $\%$	Stärkegehalt der Kartoffel- knollen $\%$	Größe der Stärkekörper. Gewogenes Mittel der mittleren Durchmesser μ	Abbau der Stärke mit 1 n-HCl bei 85°C		Quellungs- temperatur $^{\circ}\text{C}$
				Glukose nach 1 Stunde $\%$	Glukose nach 3 Stunden $\%$	
7,9	0,30	—	11,7	3,5	36,0	55,4
9,8	0,40	9,7	10,8	3,4	33,0	59,6
12,6	0,80	13,6	14,3	3,3	32,0	61,0
15,1	1,00	14,7	19,6	2,2	27,0	62,0
17,7	1,15	14,8	22,1	1,6	24,8	64,6
20,5	1,25	16,6	21,3	1,4	23,2	66,2
22,4	1,30	14,2	21,0	1,2	21,0	67,0
26,1	1,00	12,5	17,1	0,7	15,8	67,6
29,0	0,65	11,3	15,1	0,7	12,6	68,6
31,2	0,35	5,0	11,6	0,7	11,4	69,2
34,2	—	0	—	—	—	(69,8)

Bei 22°C hat die Kurve ein ausgesprochenes Optimum, um dann nach beiden Seiten rasch abzufallen. Bei Bodentemperaturen unterhalb 10 und über 30°C beträgt der Glukosegehalt weniger als ein Viertel des Optimums.

Glukose kommt daher nicht als Reservestoff in Frage, ebensowenig Fruktose, die nur in Spuren nachgewiesen werden konnte.



b) Der Stärkegehalt

Methodik: Für die Stärkeanalysen, die dreifach ausgeführt wurden, diente als Ausgangsmaterial je eine abgewogene Menge (12—13 g) Frischkartoffeln. Diese wurden in einer Reibschale mit Quarzsand fein zerrieben und dann erst mit Wasser und hernach mit 96 prozent. Alkohol je 3 Stunden auf der Schüttelmaschine extrahiert, um die Dextrine und Zucker herauszulösen. Der Rückstand wurde nun im Autoklav in Gegenwart von 1/500 n Essigsäure mit 100 cc konzentrierter Kalziumchloridlösung (1 Teil krist. Kalziumchlorid und 1 Teil Wasser) während einer halben Stunde auf 110°C erhitzt und nachher

Abb. 9
Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Glukosegehalt des Preßsaftes von Kartoffelknollen der Sorte Ideal

auf dem Sandbad noch 5 Minuten aufgekocht. Auf diese Art und Weise geht die Stärke quantitativ in Lösung; sie kann filtriert und im 200-mm-Rohr polarimetrisch bestimmt werden. Diese Messungen wurden mit einem Kern-Kreispolarimeter ausgeführt, das eine Ablesegenauigkeit von $0,05^\circ$ erlaubt.

Der Stärkegehalt berechnet sich nach der Formel

$$c = \frac{a \cdot 100}{1 \cdot [a]}$$

Dabei bedeutet c die Anzahl g Stärke in 100 cc Lösung, l die Länge des Rohres in dm; a ist der abgelesene Drehungswinkel und $[a]$ das spezifische Drehvermögen. Dieses wurde gleichzeitig in Parallelversuchen, also unter den genau gleichen Bedingungen, bestimmt, indem die Drehung einer Lösung von bekannter Konzentration gemessen wurde.

Unter diesen Versuchsbedingungen gehen noch kleine Mengen linksdrehender Eiweiße in Lösung. Ihr Drehungswert muß daher bestimmt und berücksichtigt werden. Dazu diente eine Probe von Kartoffelknollen, die an der oberen Temperaturgrenze, bei $34,2^\circ\text{C}$, gewachsen waren und sich als absolut stärkefrei erwiesen. Ihr Drehungswert wurde, da es sich um Linksdrehung handelt, zu den übrigen Werten addiert; er betrug $-0,10^\circ$.

Die Ergebnisse der Stärkeanalysen sind in Tabelle 5, 3. Spalte zusammengestellt. Sie zeigen, daß die Stärke bis gegen 20% des Frischgewichtes der Kartoffelknollen ausmacht. Daher konnte sie auch auf optischem Wege bestimmt werden. Die Stärkekurve (Abb. 10) hat einen ähnlichen

Verlauf wie die Glukosekurve (Abb. 9). Sie besitzt bei der Bodentemperatur von 20°C ihr Optimum und fällt nach beiden Seiten erst langsam, dann rasch ab, um bei der oberen Temperaturgrenze von $34,2^\circ\text{C}$ den Nullpunkt zu erreichen.

Damit wird die in Kapitel 2 festgestellte Diskrepanz zwischen der assimilatorischen Leistung und den gespeicherten Assimilaten noch größer. Dort hat es sich gezeigt (Abb. 4), daß bei den extremen Temperaturen der

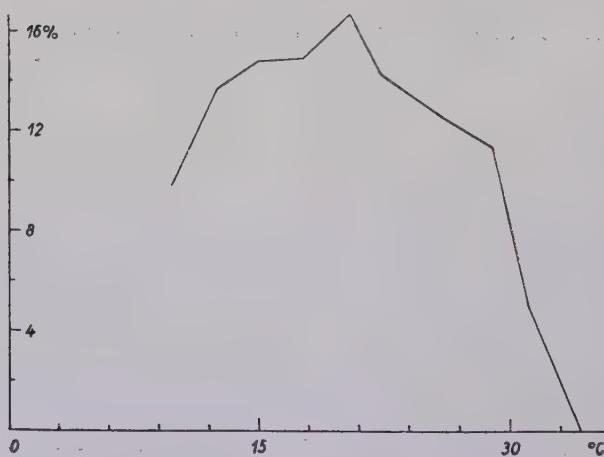


Abb. 10

Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Stärkegehalt der Kartoffelknollen der Sorte Ideaal.

Knollenertrag stark zurückgeht. Hier zeigt es sich außerdem, daß mit dieser quantitativen auch eine qualitative Veränderung des Knollenertrages verbunden ist, indem sich nicht nur das Gewicht, sondern auch der Stärkegehalt verringert, und daß bei der oberen Temperaturgrenze die Stärkespeicherung ganz eingestellt werden kann.

Aus der Ähnlichkeit der Abb. 9 und 10 geht hervor, daß sich das Glukose/Stärke-Gleichgewicht im untersuchten Bereich der Bodentemperaturen nicht wesentlich verändert. Der Stärkegehalt der Kartoffelknollen steigt und fällt mit dem Glukosespiegel des Zellsaftes. Die Stärke ist also bei allen untersuchten Bodentemperaturen die einzige Form der Kohlenhydrat-Reservestoffe in den Kartoffelknollen.

5. Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Qualität der Stärke

a) Die Größe der Stärkekörner

Die einzelnen Stärkekörner haben verschiedene Formen; die kleineren sind meist kugelig, die größeren ellipsoidisch. Dies erschwert die Diskussion ihrer Größenverhältnisse. Um eine vergleichbare Größe zu erhalten, muß der mittlere Durchmesser, d. h. das arithmetische Mittel zwischen dem kleinsten und dem größten Durchmesser bestimmt werden. Zu diesem Zwecke wurden aus Schnittpräparaten von jeder Temperaturstufe 100 Stärkekörner gemessen, der mittlere Durchmesser berechnet und dessen Frequenz als Funktion der Größe in Verteilungskurven aufgetragen (Abb. 11).

Der Kurvenverlauf zeigt bei allen Temperaturtypen generell den gleichen Charakter. Die Variationsbreite ist überall groß; die kleinsten Körner messen 4, die größten 30—60 μ . Innerhalb dieser Grenzen ist die Verteilung stark asymmetrisch; die Kurve steigt vom Minimalwert rasch an, durchläuft meist im ersten Drittel der Variationsbreite, zwischen 3 und 9 μ , ihr Optimum und fällt dann rasch ab, um schon in der Mitte der Variationsbreite beinahe den Nullpunkt zu erreichen. Von hier keilt sie sehr langsam gegen die obere Grenze aus.

Neben diesem allgemein gleichen Charakter zeigen sich zwischen den einzelnen Kurven beträchtliche Unterschiede, die eine deutliche Abhängigkeit der Korngröße von der Bodentemperatur verraten. In Abb. 12 sind die charakteristischen Werte der Stärkekörner als Funktion der Bodentemperatur in Kurven aufgetragen. Besonders deutlich zeigt sich der Temperatureinfluß bei der obersten Kurve (die maximale Körnergröße als Funktion der Bodentemperatur). Während bei extremen Bodentemperaturen höchstens ein Durchmesser von 30 μ erreicht wird, steigt dieser beim Optimum der Bodentemperatur auf 60 μ , also auf den doppelten Wert an.

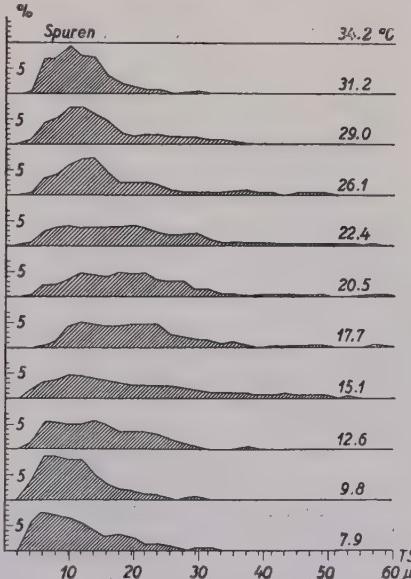


Abb. 11

Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Größe der Stärkekörner der Sorte Ideaal.
(Verteilungskurven)

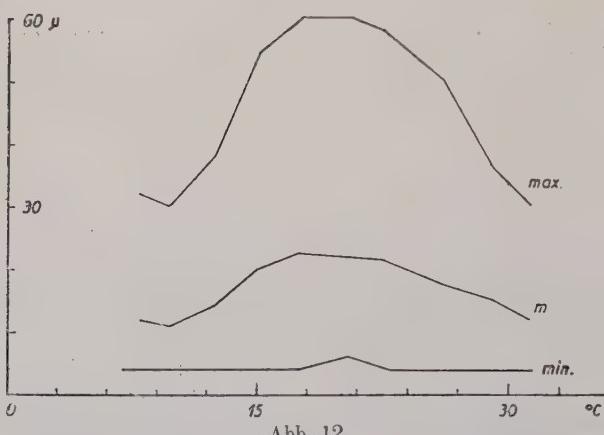


Abb. 12

Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Größe der Stärkekörner der Sorte Ideal. max. = Maxima. m = gewogene Mittelwerte. min. = Minima

genannten Durchwachsens; d. h. die betreffenden Kartoffelknollen sind nicht dort gewachsen, wo die Temperatur von $7,9^{\circ}\text{C}$ gemessen wurde, sondern bei einer höheren Bodentemperatur, wie sie — infolge der bedeutend höheren Lufttemperatur — dicht unter der Erdoberfläche herrscht.

Besonders interessant ist die Temperaturstufe von $34,2^{\circ}\text{C}$. Wie schon die Stärkeanalysen zeigten, liegt hier die obere Temperaturgrenze der Stärkebildung. Diese Feststellung wird durch die mikroskopische Untersuchung der Schnittpräparate bestätigt. Die äußerst spärlichen Stärkekörper reichen nicht zur Aufstellung einer Verteilungskurve. Das Speichergewebe dieser Kartoffelknollen ist praktisch stärkefrei. Es zeigt makroskopisch auch keine Jodreaktion.

b) Die Resistenz der Stärkekörper gegenüber Säure

Die Untersuchung der Schnittpräparate im polarisierten Licht hatte gezeigt, daß besonders die bei niedriger Temperatur abgelagerte Stärke vom Fixierungsmittel nach Nawaschin leicht korrodiert wird. Weitere Versuche bestätigten, daß es sich hier um die Folge der Säureeinwirkung handeln muß, daß also die verschiedenen Stärketyphen gegenüber Säuren ungleich resistent sind. Um diese Unterschiede zu erfassen, wurden folgende Versuche ausgeführt:

a) Gewinnung des Stärkemehles. Die frischen Kartoffeln wurden zu einem Brei vermahlen. Dieser wurde auf einem Leinentuch mit fließendem Wasser ausgewaschen. Im Spülwasser setzte sich die Stärke rasch ab. Die darüberstehende Flüssigkeit wurde wiederholt dekantiert, bis die Stärke rein weiß war.

b) Abbauversuch mit n-HCl bei 85°C . Eine abgewogene Menge (1 g) lufttrockene Stärke wurde mit 20 ccm n-HCl versetzt und in einen Thermostaten von 85°C gebracht. Nach einer bzw. drei Stunden wurden je 1 ccm der Lösung abpipettiert und die gebildete Glukose nach der Mikro-

Die mittlere Kurve (m) gibt das gewogene Mittel der Korngröße als Funktion der Bodentemperatur (Tabelle 5, 4. Spalte) an. Sie zeigt mit der Maximalkurve große Ähnlichkeit und steigt und fällt mit ihr. Auch die beiden Optima liegen übereinander. — Die Werte für die Bodentemperatur von $7,9^{\circ}\text{C}$ sind fragwürdig. Es handelt sich hier offensichtlich um die Erscheinung des so-

methode von Bertrand bestimmt. Dabei zeigte es sich, daß die Stärke um so leichter abgebaut wird, je tiefer die betreffende Wachstumstemperatur war (Abb. 13). Die untere Kurve gibt die nach einer Stunde gebildete Glukosemenge an. Innerhalb des untersuchten Temperaturbereiches von 8—31°C zeigt sich ein Verhältnis von 5:1; d. h. von der bei 8—10°C gebildeten Stärke wird in der gleichen Zeit 5 mal mehr zu Glukose abgebaut als von der Stärke, die bei über 30° gewachsen ist. Nach 3 Stunden ist das Verhältnis, wie die obere Kurve der Abb. 13 zeigt, immer noch 36:11.

Solche Unterschiede können chemisch bedingt sein durch eine Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen der Sol- und der Gelkomponente, also durch eine Änderung des Verhältnisses zwischen Amylopektin und Amylose. Sie können aber auch entstehen durch eine unterschiedliche submikroskopische Struktur der Gelkomponente; denn bei einer dichten, engmaschigen Struktur dringt die Säure langsamer ein als bei einem weitmaschigen, lockeren Netz. Welche der beiden Möglichkeiten hier zutrifft, vermögen wir nicht zu entscheiden; doch werden die gleich zu betrachtenden übrigen Stärkeversuche zugunsten der submikroskopischen Deutung sprechen.

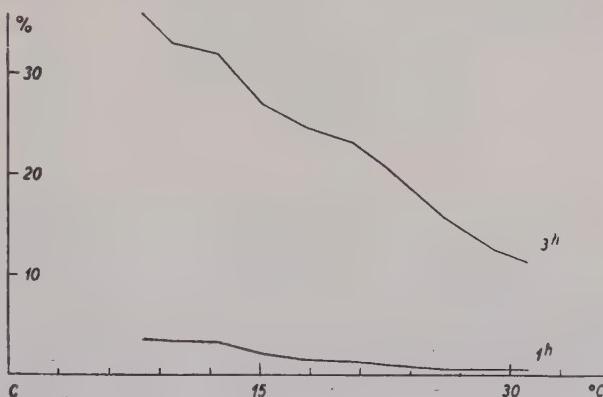


Abb. 13
Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Resistenz der Stärke gegenüber Salzsäure (Sorte Ideaal). (Erklärung im Text)

e) Die Quellungstemperatur der Stärkekörner

Es ist bekannt, daß die Quellungstemperatur der Stärkekörner abhängig ist von der Korngröße. Diese Tatsache muß natürlich berücksichtigt werden, wenn man die Beziehung zwischen Quellungs- und Bodentemperatur untersuchen will. Es wurde daher eine mikroskopische Bestimmungsmethode angewandt, bei der die Stärke unter langsam ansteigender Temperatur beobachtet werden konnte.

Als **M eßapparatur** diente ein Mikroskop mit einem zu diesem Zwecke besonders konstruierten heizbaren Objekttisch (Abb. 14). Eine U-förmige Kupferplatte mit 6 Bohrungen von 3 mm Durchmesser in der Symmetrieachse wird mittels Holzleisten als Wärmeisolatoren auf dem Kreuztisch des Mikroskopes befestigt. Darauf wird ein kombiniertes Untersuchungsgefäß gelegt. Dieses besteht zur Hauptsache aus einem durchlöcherten Messingquader mit der gleichen Grundfläche wie ein Objektträger und einer Höhe von 7 mm. Die 6 durchgehenden vertikalen Löcher haben einen Durchmesser von 6 mm. Eine horizontale Bohrung von 3 mm Durchmesser und

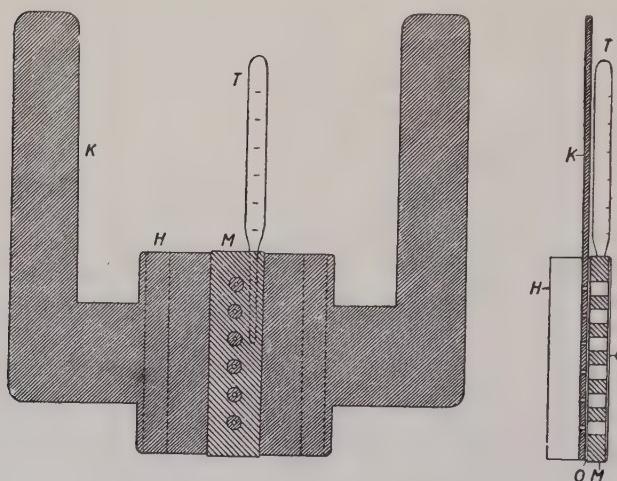


Abb. 14

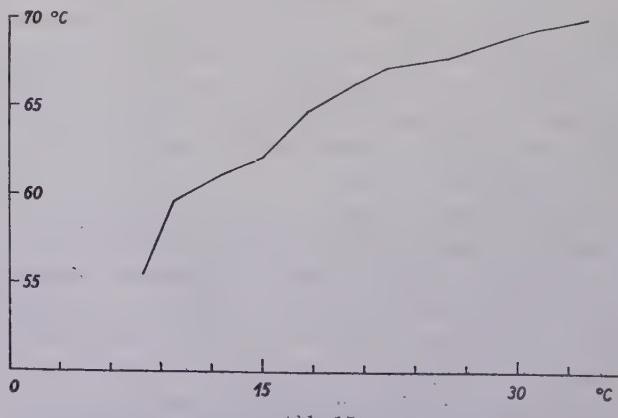
Heizbarer Objekttisch zur Bestimmung der Quellungstemperatur.
K = Kupferplatte. M = Messingquader. O = Objektträger.
H = Holzleisten. T = Thermometer ($\frac{1}{3}$ nat. Größe)

sind in vertikaler Richtung für Licht durchlässig und können mit Hilfe des Kreuztisches nacheinander in den Strahlengang des Mikroskopos eingeschaltet werden. Unter die Enden der Kupferplatte wird je ein Gasbrenner gestellt und die Flamme so weit reguliert, daß die Temperaturzunahme im Messingblock nicht mehr als 2°C je Minute beträgt. Der Quellungsverlauf läßt sich nun mikroskopisch direkt beobachten, und gleichzeitig kann die Temperatur abgelesen werden.

Die in Abb. 15 und Tabelle 5 aufgeführten Werte für die Quellungs-temperatur der Stärkekörner beziehen sich auf eine mittlere Körnergröße von $10-20\mu$. Sie zeigen eine starke Abhängigkeit von der Boden-temperatur. Je höher die Bodentemperatur während der Entwicklung der Kartoffelknollen, desto höher liegt die Quellungstemperatur der Stärkekörner.

Innerhalb des untersuchten Bereiches von $7,9$ bis $34,2^{\circ}\text{C}$ Bodentemperatur steigt die Quellungs-temperatur von $55,4$ auf $69,8^{\circ}\text{C}$, also um rund 15° . Dieser Temperaturanstieg verläuft nicht linear. Bei den tiefen Bodentemperaturen steigt die Kurve am

5 cm Länge dient zur Aufnahme eines Quecksilberthermometers. Auf der Grundfläche des Quaders wird mittels Vaseline ein Objektträger befestigt. Damit sind 6 nebeneinanderliegende Gefäße entstanden. Sie werden mit Wasser gefüllt und mit je einer Spur Stärke-pulver beschickt. Nun wird auch auf der Deckfläche ein Objektträger aufgelegt. Auf diese Weise sind gleichzeitig 6 verschiedene Stärketypen in Wasser eingeschlossen. Die Gefäße



Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Quellungstemperatur der Stärkekörner (Sorte: Ideaal)

raschesten. Bis 20°C ist der Quotient $\Delta \text{Quellungstemperatur} / \Delta \text{Boden-temperatur}$ noch größer als 1; er wird rasch kleiner und ist bei der oberen Wachstumsgrenze noch 0,3.

Ein Vergleich der Abb. 13 und 15 zeigt, daß Quellungstemperatur und Abbaufähigkeit mit Salzsäure umgekehrt proportional verlaufen. Die Säureresistenz ist also direkt proportional der Quellungs-temperatur. Diese Feststellung läßt vermuten, daß es sich bei den Unterschieden zwischen den verschiedenen Stärketypen um Auswirkungen einer unterschiedlichen submikroskopischen Struktur handelt. Wenn diese nämlich mit steigender Bodentemperatur dichter wird, bieten sich dem Eindringen von Säure oder von Quellungswasser erhöhte Schwierigkeiten, indem mehr Bindungen gelöst oder Haftpunkte gesprengt werden müssen.

d) Die Jodreaktion

Die Stärke besteht aus zwei Komponenten, dem Amylopektin und der Amylose. Amylopektin ist der verkleisternde Anteil und färbt sich mit alkoholischer Jodlösung violett bis braun, Amylose verkleistert nicht und gibt mit wässriger Jodlösung Blaufärbung.

Zur vergleichenden Untersuchung dieser Jodreaktion wurde folgendermaßen vorgegangen: die in 70 prozent. Alkohol fixierten Knollenstücke wurden über Benzol in Paraffin eingebettet, und zwar von jeder Temperaturstufe je eine Probe im gleichen Block, so daß beim Schneiden mit dem Mikrotom in jedem Schnitt sämtliche Temperaturtypen nebeneinander zu liegen kamen. Diese Schnittserien konnten nun auf Objektträger aufgezogen und zur Jodreaktion der Stärke verwendet werden.

Zuerst wurde 0,6 prozent. wässrige Jodlösung verwendet. Nach wenigen Sekunden färbte sich die Stärke in allen Schnitten gleichmäßig blau. Es konnten keine Unterschiede in der Geschwindigkeit oder in der Intensität festgestellt werden. In einem weiteren Versuche wurde eine gleich starke alkoholische Jodlösung verwendet; die Färbedauer betrug 20 Sekunden. Hier ergab sich eine Braufärbung von deutlich abgestufter Intensität. Die bei tiefen Bodentemperaturen abgelagerte Stärke färbt sich am stärksten. Die Intensität sinkt mit steigender Bodentemperatur erst rasch und über 30°C noch langsam ab. Wenn man schwache Jodlösungen verwendet (1‰) und diese um so länger einwirken läßt (15 Minuten), ergeben sich — etwas abgeschwächt — die gleichen Verhältnisse.

Bei langandauernder Einwirkung von 0,6 prozent. alkoholischer Jodlösung färbt sich auch die bei hohen Bodentemperaturen gebildete Stärke tief braunschwarz. Bettet man solche Präparate in Kanadabalsam ein, so verschwindet die Jodfärbung allmählich. Nach einigen Tagen ist die Farbintensität gerade umgekehrt wie beim Anfärben, die bei hohen Bodentemperaturen gebildete Stärke ist nunmehr noch am intensivsten gefärbt. Die Stärkekörner werden also um so rascher entfärbt, je größer sie sind und je tiefer die Boden-temperatur bei ihrer Ablagerung war.

Diese Feststellungen sprechen ebenfalls für die oben geäußerte Ansicht, daß durch die Bodentemperatur vor allem die Struktur der Stärke beein-

flußt wird, in dem Sinne, daß mit steigender Temperatur das submikroskopische Gefüge der Stärkekörper kompakter wird.

6. Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Schorfbefall

a) Die Temperaturansprüche des Erregers

Eine Isolierung von *Actinomyces scabies* von schorfbekrankten Kartoffeln aus dem Versuchsfeld für Pflanzenbau der Eidg. Technischen Hochschule in Nante ob Airolo (oberer Tessin, 1430 m ü. M.) wurde in 300-ccm-Erlenmeyerkolben aus Muranoglas auf Malzagar bei verschiedenen Temperaturen gehalten; um das Eintrocknen des Substrates zu verzögern, wurde der Kolbenmund außer durch den Wattebausch noch zusätzlich mit Cellophan verschlossen. Bei jeder Temperatur wurden 10 Kolben angesetzt. Nach 117 Tagen wurde bei jeder Kultur der größte und der kleinste Durchmesser bestimmt, das Mittel gezogen und dann aus den 10 Parallelen das Mittel berechnet.

Nach Abb. 16 liegt das Wachstumsminimum unseres *Actinomyces*-Stammes bei 3°C , das Optimum bei 24°C , und das Maximum bei 33°C . Die Temperaturansprüche unseres *Actinomyces*-Stammes sind also deutlich niedriger als in der Literatur für andere Provenienzen angegeben wird.

b) Die Infektionsversuche

Um die erkrankten Stellen sicher zu erkennen, wurden die Kartoffelknollen nach der Ernte unter dem Wasserstrahl gewaschen. Wir geben in unseren Tabellen 1—3 die durchschnittliche Zahl der je Staude erkrankten Knollen und die durchschnittlich erkrankte Fläche wieder; diese wurde durch Auflegen eines durchsichtigen karierten Millimeterpapiers näherungsweise bestimmt.

Der Schorfbefall setzt bei den Bodentemperaturen von 10 — 13°C ein (Abb. 17) und reicht bis zur Bodentemperatur von 29°C ; unterhalb 10°C und oberhalb 29°C traten nirgends Erkrankungen auf. Die Krankheit hebt

also gleich an der unteren Temperaturlinie in voller Heftigkeit an, hält sich dann in einem breiten Temperaturband auf der ungefähr gleichen Höhe und klingt bei den Bodentemperaturen von 23 bis 29°C allmählich aus. Das Temperaturoptimum für den Schorfbefall liegt also bei unserem Material erheblich niedriger als in der Literatur angegeben wird.

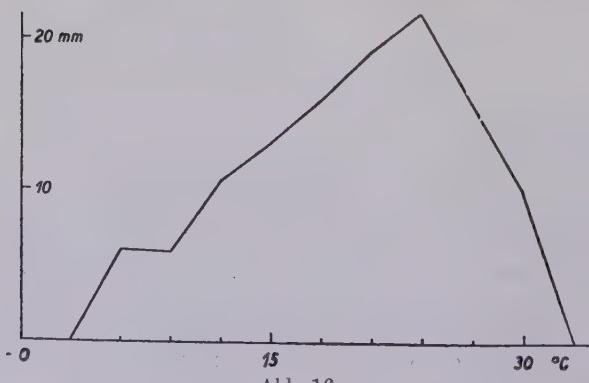


Abb. 16

Die Wachstumsgeschwindigkeit eines Stammes von *Actinomyces scabies* (Thaxt.) Güss. auf Malzagar bei verschiedenen Temperaturen

Aus einem Vergleich der Abb. 17 und Abb. 16 (der

Einfluß der Temperaturen auf die Wachstumsgeschwindigkeit des Parasiten) geht hervor, daß die Kurve für den Schorfbefall der Kartoffelknollen dann abzusinken beginnt, wenn der Parasit auf seinem Temperaturoptimum anlangt. Die Krankheit erreicht also bei für den Parasiten suboptimalen Bodentemperaturen ihr Optimum, ihre größte Häufigkeit und Heftigkeit. Bei der Temperatur von 13°C , bei der der Schorf schon in voller Heftigkeit einsetzt, entwickelt sich der Erreger nach Abb. 16 noch verhältnismäßig langsam. Selbstverständlich ist die lineare Wachstumsgeschwindigkeit eines Parasiten, auf welcher die Abb. 16 aufbaut, nicht ein vollgültiger Maßstab für seine parasitische Wirksamkeit; das Optimum der letzteren dürfte in der Regel etwas niedriger liegen als das Optimum der erstenen. Wenn jedoch die Kurven für den thermisch bedingten Krankheitsbefall und für die thermisch bedingte Wachstumsintensität des Parasiten derart auseinanderklaffen wie die Abb. 16 und 17, so ist der Schluß berechtigt, daß nicht in erster Linie die Temperaturansprüche des Parasiten das Ausmaß der Erkrankung steuern.

Wir vergleichen deshalb die Abb. 17 mit Abb. 4 (der Einfluß der Bodentemperatur auf den durchschnittlichen Knollenertrag je Staude). Die beiden Kurvengruppen verlaufen sehr ähnlich: Das Ertragsoptimum deckt sich also weitgehend mit dem Schorfoptimum. Wo der Knollenertrag schon bei 10°C anzusteigen beginnt (bei der Sorte Bintje in Tabelle 1), da fängt auch der Schorfbefall schon bei 10°C kräftig an; und wo der Ertrag erst bei 13°C ansteigt (bei der Sorte Ideaal in Tabelle 2 und 3), da setzt auch der Schorfbefall erst bei dieser Temperatur nachhaltig ein. Die gleiche Kongruenz besteht bei der oberen Temperaturgrenze (26°C).

Aus dieser Koinzidenz von Ertragsoptimum und Krankheitsoptimum ergeben sich zwei Schlußfolgerungen: 1. daß *Actinomyces scabies*, im Gegensatz zu *Rhizoctonia solani*, die Stolonen nicht angreift oder sie jedenfalls nicht nachhaltig schädigt; denn sonst müßte ja der Knollenansatz oder der Ernteertrag mit der Zunahme der Krankheitsintensität abnehmen (das Gegen teil ist der Fall); und 2. daß, wie bei den Rostkrankheiten, irgendwie der Gesundheitszustand, die Vitalität des Wirtes den Krankheitsbefall steuert: je lebenskräftiger der Wirt, um so stärker wird er vom Parasiten befallen.

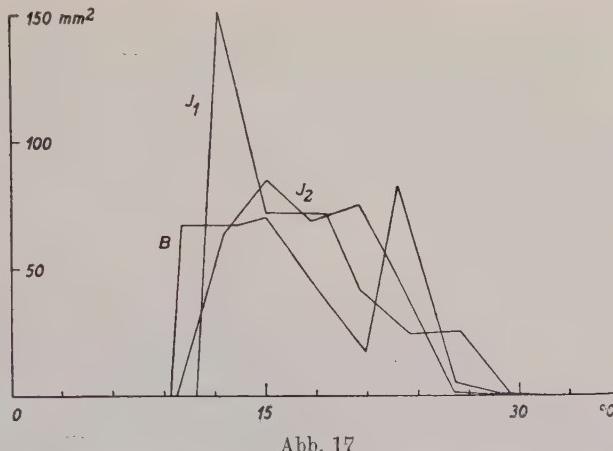


Abb. 17

Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Schorfbefall. (Ausmaß der schorfskranken Fläche je Staude) bei den Kartoffelsorten Bintje (Kurve B) und Ideaal (Kurven J)

Doch läßt sich zwischen den in dieser Arbeit geschilderten histologischen und mikrochemischen Besonderheiten der Knollen, so zwischen der Dicke des Periderms (Abb. 5) oder der Zahl der Zellagen des Periderms (Abb. 6) oder dem unterschiedlichen Bau sämtlicher peripheren Schichten (Abb. 8) einerseits und dem Schorfbefall andererseits, keine unmittelbare Beziehung erkennen; die Ursachen des unterschiedlichen Schorfbefalles müssen somit tiefer liegen, nämlich in einer unterschiedlichen Reaktionsfähigkeit des Wirtes.

7. Zusammenfassung

1. Die Bodentemperatur beeinflußt die oberirdischen Teile der Kartoffelpflanze nicht, wohl aber die Ausbildung der Knollen. Die Entwicklung des Krautes wird nur durch die Lufttemperatur gesteuert.
2. Die bei verschiedenen Bodentemperaturen gewachsenen Knollen zeigen sowohl quantitative wie qualitative Unterschiede und sind gegenüber Schorf (*Actinomyces scabies*) verschieden anfällig.
3. Der Knollenertrag zeigt zwischen den Bodentemperaturen von 13 und 26° C ein breites, aber deutliches Optimum. Dieses kommt darin zum Ausdruck, daß in diesem Temperaturabschnitt sowohl die Zahl der Knollen je Staude wie auch das durchschnittliche Knallengewicht am höchsten sind.
4. Der Einfluß der Bodentemperatur auf die histologischen Verhältnisse zeigt sich im Periderm und besonders deutlich in der primären Rinde, welche mit Ausnahme ihrer äußersten Schicht ein Speichergewebe für Stärke ist. Die Dicke der stärkefreien Zone mißt unterhalb 27° C weniger als 100 μ ; oberhalb 30° C steigt sie rasch auf 300 μ und bei der oberen Temperaturgrenze von 34° C sind die ganzen Knollen praktisch stärkefrei.
5. Glukose- und Stärkegehalt durchlaufen bei 20—22° C je ein ausgesprochenes Optimum und fallen dann besonders bei höheren Bodentemperaturen rasch ab. Das Glukose/Stärke-Gleichgewicht wird durch die Bodentemperatur nicht wesentlich beeinflußt.
6. Auch die Abhängigkeit der Größe der einzelnen Stärkekörner (sowohl Maximalgröße als Mittelwert) von der Bodentemperatur wird durch Optimumkurven charakterisiert.
7. Die Quellungstemperatur der Stärkekörner und die Resistenz gegenüber Säure steigen mit der Bodentemperatur zuerst rasch, dann langsam, um sich einem Grenzwert zu nähern. Die Geschwindigkeit der braun-violetten Jodfärbung des Amylopektins sinkt mit steigender Bodentemperatur. Dagegen steigt die Beständigkeit dieser Färbung wieder im gleichen Maße wie die Resistenz der Stärkekörner gegenüber Säure. Diese Feststellungen sprechen für die Auffassung, daß mit steigender Bodentemperatur das submikroskopische Gefüge der Stärkekörner dichter wird.

8. Der Schorfbefall erreicht nicht beim Temperaturoptimum des Parasiten, sondern bei einer für den Parasiten suboptimalen Temperatur sein Optimum; er deckt sich nämlich mit dem thermischen Ertrags-optimum der Kartoffelknollen. Je höher also die Vitalität des Wirtes, um so stärker wird er durch den Parasiten befallen.

Schrifttum

- de Bruyn, H. L. G., 1939. Onderzoeken over enkele Actinomyceten, welche aardappelschurft verwekken. Tijdschr. over plantenziekt. **45**, S. 133—150.
- Fitch, C. L., 1915. Studies of health in potatoes. Col. Sta. Bul. 216;16. 21. November 1915.
- Gäumann, E., 1940. Über die Temperaturansprüche des Hausschwammes. Centralbl. Bact., II. Abt. **101**, S. 409—410.
- Gäumann, E. und Riehmann, O., 1938. Zur Methodik der Versuche mit konstanten Bodentemperaturen. Phytopath. Zeitschr. **11**, S. 617—631.
- Gilbert, A. W., 1922. The potatoes. S. 317.
- Leach, J. G., Decker, Ph. and Becker, H., 1939. Pathogenic races of *Actinomyces scabies* in relation to scab resistance. Phytopath. **29**, S. 204—209.
- Müller, K. O. und Griesinger, R., 1942. Der Einfluß der Temperatur auf die Reaktion von anfälligen und resistenten Kartoffelsorten gegenüber *Phytophthora infestans*. Angew. Botanik **24**, S. 130—149.
- Pringsheim, H. und Krüger, D., 1932. Handbuch der Pflanzenanalyse, C. Klein, 2, I. Teil, S. 876—884.
- Roemer, Th., Fuchs, W. H. und Isenbeck, K., 1938. Die Züchtung resistenter Rassen der Kulturpflanzen. S. 427. Berlin, Verlag Paul Parey.
- Samec, M., 1941. Die neuere Entwicklung der Kolloidchemie der Stärke. S. 543. Dresden und Leipzig.
- Smith, W. J., 1915. The effect of the weather upon the yield of potatoes. U.S. Dept. Ag. Mo. Weather Rev. S. 222—228, May 1915.
- Stuart, W., 1928. The potato. 518 S. Philadelphia.
- Wollenweber, H. W., 1932. Fungi imperfecti in Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten 3, II. Teil, 5. Aufl., S. 577—843.

(Aus der Landesanstalt für Rebenzüchtung, Alzey)

Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Weinrebe „*Vitis vinifera* Gmelin“

Zur Morphologie der vergrünten Rebenblüte

Von

Hans Breider

Mit 20 Abbildungen

1. Einleitung und Problem

Bei der Kulturrebe *Vitis vinifera* treten hin und wieder vergrünte Blüten auf, sogenannte Virescenzen, Verlaubungen, bei denen Blütenorgane zu grünen Blättern geworden sind. In der Literatur werden diese Erscheinungen bisweilen erwähnt, ohne ihnen besondere Beachtung zu schenken. Im praktischen Weinbau gelten sie als unerwünschte Eigenschaften, die vorwiegend durch bisher noch unbekannte Umweltfaktoren hervorgerufen werden sollen, und die den von „Vergrünungen“ betroffenen Stock unfruchtbar werden lassen. In der Tat findet man gerade in diesem Jahr, in dem die Blütenreife der Reben ortsweise in den extremen Temperatur- und Klimawechsel hineinfiel, solche „Vergrünungen“ öfter. Derartige modifikativ bedingte Virescenzen verschwinden wieder, wenn in den kommenden Jahren der Ablauf der Blüte unter gleichbleibende günstige Temperatur- und Klimabedingungen fällt. Die Neigung zur Entwicklung vergrünter Blüten ist aber keineswegs ein die Art *Vitis vinifera* allgemein charakterisierendes Merkmal, sondern von Sorte zu Sorte verschieden. Ebenso ist die Dauer der Vergrünungen wie ihr Umfang von der erblichen Disposition und von Umweltbedingungen abhängig. In der Abhängigkeit von Außenfaktoren bestehen wiederum insofern Unterschiede, als Stöcke mit vergrünten Blüten bezüglich ihrer Virescenz weitgehend umweltkonstant sind. Derartige Vergrünungen überdauern nicht nur mehrere Jahre, sondern treten sowohl nach Standorts- wie Klimawechsel wie auch nach vegetativer Vermehrung wieder auf. Und schließlich sind zur Vergrünung ihrer Blüten neigende Formen nach geschlechtlicher Vermehrung zu finden. Danach treten Vergrünungsscheinungen als Modifikationen, Dauermodifikationen, Mutationen und Rekombinationen auf. Um welche genetische Form es sich jeweils beim Auftreten der Verlaubung handelt, muß von Fall zu Fall untersucht werden.

Die Vergrünungen treten bei der Rebe entweder als Vergrünungen einzelner Blüten auf oder, was meist der Fall ist, als Verlaubungen sämtlicher Blütenstände eines Stockes. Im letzten Fall spricht man von „vergrünten

Gescheinen“, die sich makroskopisch von normalen Gescheinen durch ihr „krautiges“ Aussehen leicht unterscheiden lassen.

Die bislang bekanntgewordenen vergrünten Blüten¹⁾ der Rebe stellen Blütenformen dar, die im Gegensatz zu normalen Blüten nicht die Korolle als „Mützchen“ abwerfen. Die Kronblätter bleiben vielmehr im Kelchboden verankert und öffnen sich vom apikalen Pol her. Staubfäden sind nicht vorhanden. Diese sind immer und in erster Linie von der Vergrünung betroffen. Sie sind zu grünen Blumenkronblättern geworden und unterscheiden sich in Form und Funktion kaum von den eigentlichen Kronblättern. Zur Pollenbildung kommt es niemals. Der Fruchtknoten hat entweder keine normale Narbe oder besteht aus einer Vielzahl von grünen Blättchen, die der Blüte dann das Aussehen eines „Röschens“ verleihen.

Das ist der Stand unserer Kenntnisse über die vergrünten Blüten bei der Rebe. Ihrer genauen Entwicklung und Ausprägung schenkte man weiter keine Beachtung. Dabei stellen sie geradezu ein ausgezeichnetes Material für morphologische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen dar, die für unsere Anschauung über die stammesgeschichtliche Entwicklung und Formbildung ebenso von Bedeutung werden können, wie sie uns Aufschluß über die mannigfaltigen Entwicklungsmöglichkeiten eines Organismus und seine Physiologie zu vermitteln vermögen. Morphologisch gesehen stellt die Blüte einen in vertikaler Richtung gestauchten Sproß beschränkten Wachstums dar, dessen Blätter sich auf die Bildung von Geschlechtsorganen spezialisiert haben, oder anders ausgedrückt, auf dessen Blätter sich die Bildung von Geschlechtsorganen beschränkt (siehe Troll). Diese allgemein auch in den Lehrbüchern vertretene Ansicht bedeutet in ihrer generellen Fassung, daß

1. die Laubblätter zur Entwicklung von Geschlechtsorganen — *a priori* — befähigt sind;
2. die Knoten eines Blütenprozesses im Blütenboden — sekundär — vereinigt wurden;
3. der Vegetationskegel mit der Ausbildung der Blüte sein weiteres Teilungswachstum einstellt.

Wenn es gelingt, die Entwicklung vom Sproß bis zur Blüte im Experiment rückläufig werden zu lassen, würde damit ein neuer Beweis für die Richtigkeit der oben ausgesprochenen Anschauung erbracht werden können.

Entwicklungsphysiologisch gestatten derartige Verlaubungen interessante Experimente zur Erkennung von Wirkungsabläufen in der Rebe. Boas führt einzelne Vireszenzen auf die Wirkung von äußeren Faktoren zurück. Wörtlich heißt es: „Durch äußere Eingriffe werden hier²⁾ Entwicklungs-umkehrungen vorgenommen, die im Wesen der Pflanze irgendwie verborgen liegen. Auf die Möglichkeit eines hier sich auswirkenden Hormon- und Formbildungskreislaufes sei hier wenigstens kurz hingewiesen.“ Im letzten Punkt pflichte ich Boas unbedingt bei. In dieser Richtung laufen auch meine Experimente. Dagegen glaube ich nicht, daß allgemein Verlaubungen

¹⁾ Allgemein sei hier auf O. Penzig, Pflanzenteratologie hingewiesen.

²⁾ bei *Crepis*, *Carum*, *Trifolium*.

lediglich durch Umweltfaktoren hervorgerufen werden, sondern daß in erster Linie genetische Momente dabei zu berücksichtigen sind.

Diese erste Darstellung der morphologischen Verhältnisse soll mehr den Charakter einer allgemein orientierenden Abhandlung tragen, der in Kürze die eingehendere histologisch-zytologisch-entwicklungsgeschichtliche und entwicklungsphysiologische folgen wird.

2. Material und Technik

Zur Verfügung standen das reichhaltige Sortiment von Kultursorten der Landesanstalt für Rebenzüchtung in Alzey, ein verlaubter Sylvanerklon, 2 Stücke — Klonenindividuen des Kleinbergers und ein anormaler F_1 -Sämling der Kreuzung St. Laurent \times Triumphrebe. Sofern Schnitte für mikroskopische Untersuchungen hergestellt wurden, lieferte die Carnoy-Fixierung das beste Resultat. Im besonderen erwies sich folgende Methode als geeignet:

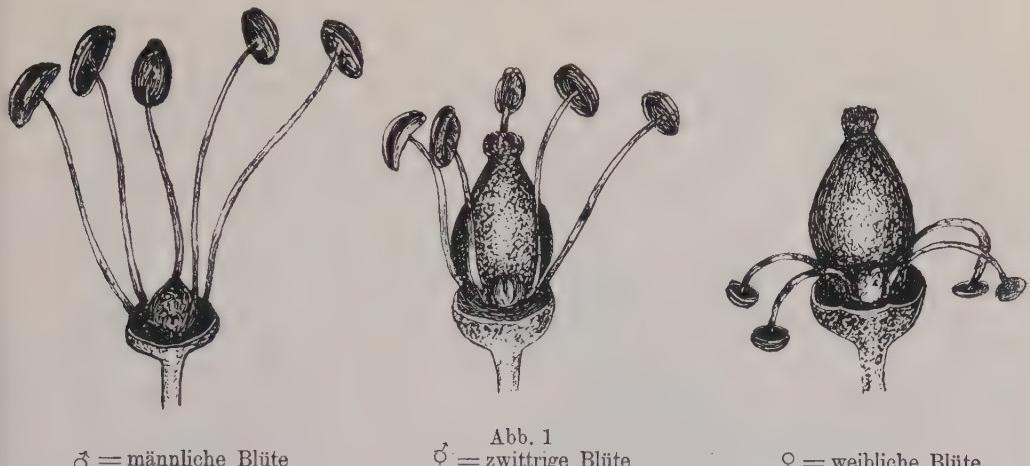
Fixierung:	Carnoy	24 Stunden
Auswaschen:	70% Alkohol	2 Stunden
	80% Alkohol	1/2 Stunde
	90% Alkohol	1/2 Stunde
	Alkohol abs.	2 Stunden
Einbetten:	Alkohol-Benzol	1/2 Stunde
	Benzol-Alkohol	1/2 Stunde
	Benzol	4 Stunden
	Benzol-Paraffin	1/2 Stunde
	Paraffin-Benzol	1/2 Stunde
	Paraffin flüssig }	wechselweise 48 Stunden
	Paraffin fest }	
Färbung:	Gentianaviolett 10' färben, leicht überfärben, im essigsauren H_2O bis 8' differenzieren, dann schnell über 50—70% Alkohol führen je 5' und normal wieder über Alkohol abs. und Xylol und mit Kanadabalsam einschließen.	

Die Schnittdicke betrug 15 μ .

3. Die normale Blüte

Die Vitaceen sind systematisch den Rhamnales untergeordnet, die sich durch einen Staubblattkreis vor den Kronblättern und einem intrastaminalen Diskus auszeichnen. Die Grundtypen der Blüten innerhalb der Gattung sind die männlichen, die funktionell weiblichen und die hermaphroditischen Formen (Abb. 1). Während alle drei Blütenformen unter den mutmaßlichen Ahnen unserer Kulturrebe in der *Vitis silvestris* und *Vitis caucasica* vertreten sind, stellen die Sorten der *Vitis vinifera* dank der ständig stattgehabten künstlichen Auslese vorwiegend sekundär zwittrige Blüten dar (Breider-Scheu 1937), die sich im Blütendiagramm von den diözischen Individuen nicht unterscheiden. Der Unterschied besteht lediglich in der verschieden starken Ausprägung des Andröceums bzw. des Gynäceums.

Weibliche Formen, wie sie von Baranov für *Vitis vinifera* var. Mourvèdre beschrieben wurden, sind anomale Bildungen, denen das Andröceum fehlt. Für ihre Abnormalität sprechen der ganz anders geartete Öffnungsmechanismus



♂ = männliche Blüte

Abb. 1
♀ = zwittrige Blüte

♀ = weibliche Blüte

der Blumenkrone, die 6-Zahl der Kronblätter und die vermehrte Zahl der Samenanlagen von 4 auf 10—16. Sie können keineswegs zum Vergleich normaler Blütenbilder herangezogen und erst recht nicht als typisch weibliche Blüte angesprochen werden (Weinbaulexikon).

Alle Blüten, die sich am apikalen Pol öffnen und nicht wie normale die Blumenkrone als „Mützchen“ abwerfen, zeigen weder eine Einschnürung an der Basis der Kronblätter noch eine vollkommene Ausbildung des besagten Diskus (Abbildung 2).

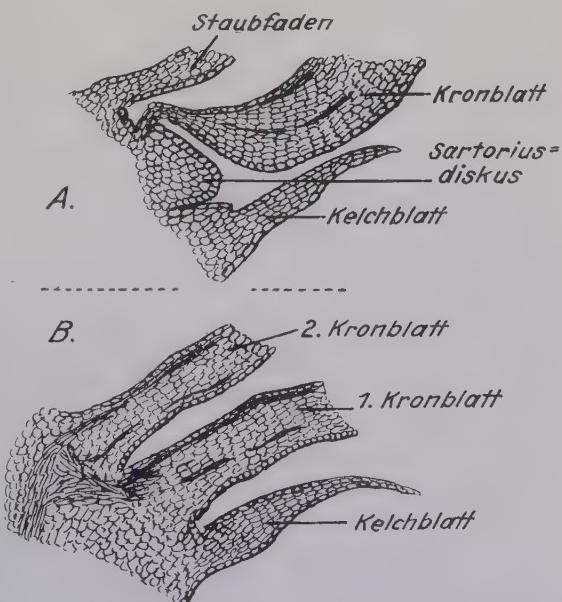


Abb. 2

Querschnitt durch den Ansatz eines Blumenkronblattes der Rebenblüte. A. einer sich normal öffnenden Blüte, B. einer sich apikal öffnenden Blüte, in der der „Sartoriusdiskus“ fehlt

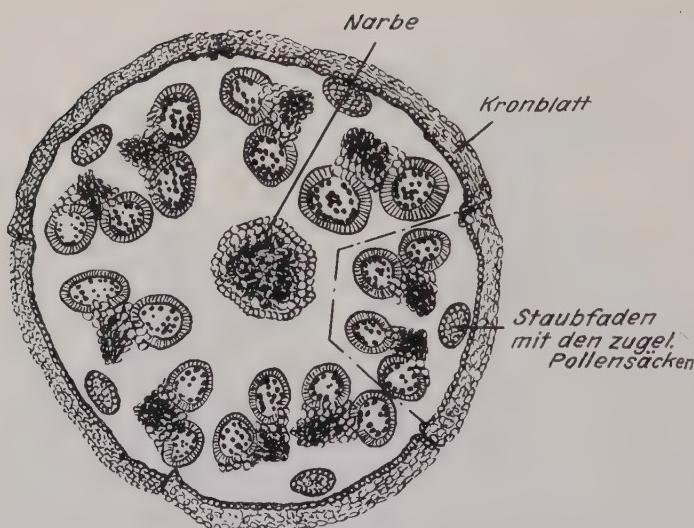


Abb. 3

Querschnitt durch den oberen Teil einer normalen Blüte

Häufig sind Abweichungen in der Zahl der Staubfäden, die in der erhöhten Zahl 6—8 öfter vorkommen als in der verminderten Zahl 3—4. Die Zahlenverminderung lässt sich oft auf eine Verschmelzung der Filamente oder auf eine gehemmte Entwicklung zurückführen. Die vermehrte Staubfädenzahl dagegen beruht öfter auf einer Spaltung der Filamente als auf einer überzähligen Entwicklung. Immer aber lassen sich die überzähligen Staubfäden in den familientypischen Staubfädenkreis einordnen.

Die zweite, fast regelmäßige Abweichung betrifft die Ausbildung der Samenanlagen, von denen meistens 1—3, selten 4 zur Entwicklung gelangen.

Die Vererbung des Geschlechtes erfolgt allgemein nach dem *Drosophila*-Typus der Geschlechtsbestimmung, d. h. das männliche Geschlecht ist heterogametisch XY, das weibliche homogametisch XX. Der Geschlechtsrealisator liegt im Y-Chromosom (Breider-Scheu). Die hermaphroditen Typen verdanken ihre Entstehung teils einer Mutation des männlichen Geschlechtsrealisators, teils autosomal-

Die Blumenkronblätter sind stets in der 5-Zahl vorhanden. Das ebenfalls fünfzählige Androeceum wird dargestellt durch einen

Staubblattkreis, dessen Staubblätter vor den Kronblättern stehen. Darauf folgt intrastaminal ein Wirtel mit 5 Nektarien als zweiter Diskus und schließlich der zweiblättrige Fruchtknoten mit 4 Samenanlagen (Einzelheiten siehe Abb. 3, 4, Querschnitte durch normale Blüten).

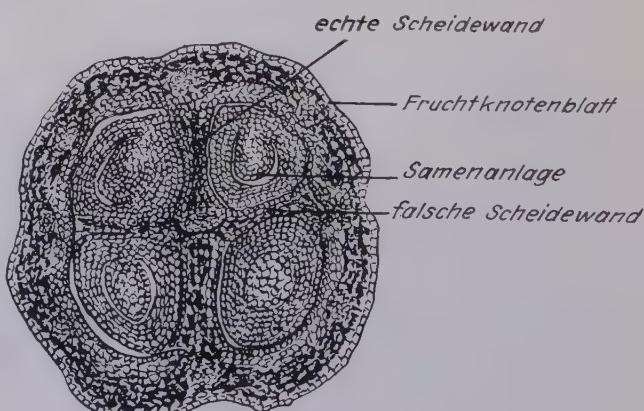


Abb. 4

Querschnitt durch den Fruchtknoten einer normalen Rebenblüte (mit 4 Samenanlagen)

lokalisierten geschlechtsbestimmenden Faktoren. Daher findet man unter den sekundär zwittrigen Blütenformen neben XY-Individuen auch homogametische YY und XX-Zwitzer. Nach eigenen Untersuchungen sind folgende bekannte Sorten heterozygotisch XY: Malinger früh, Muskat Ottonel, Müller-Thurgau, Sylvaner, Chasselas musqué, Gewürztraminer und Burgunder blau, Muskat bifère, Goldmuskat, Muskat fleur d'orange, Gutedel Sel. Schweizer, Muskat de Lierval, Muskat St. Laurent, Portugieser 175 Muskat Eugenie, Muskateller gelb, Muskat Gutedel und der Moselriesling.

Grundsätzlich, weil genetisch vom Moselriesling und Goldriesling verschieden ist der Rheinriesling, der wie Luglienza bianca, Gamay hativ, Gamay précose, Burgunder weiß, Triumphrebe und Blanc doux sich in seinen Klonen 8888, 101, 102, 7843, 8870, 7836 und Riesling Oppenheim als homogametisch YY im Kreuzungsexperiment erwies. Damit konnte mit Hilfe der Untersuchungen über Vererbung des Geschlechtes ein glänzender Beweis dafür erbracht werden, daß einerseits Mosel- und Rheinriesling und andererseits Burgunder blau und Burgunder weiß verschiedenartige Sorten sind, die nicht auf Grund einer somatischen Mutation sich auseinander entwickelt haben, sondern ihre Entstehung eher einer Kombination von Erbanlagen verdanken. Einzelheiten sind bei Breider-Scheu (1937) nachzulesen.

4. Der Sylvaner-Typus der Verlaubung

Die einfachste Form einer vergrünten Blüte stellt ohne Zweifel der vorliegende Typus eines Sylvaners dar, der bereits über mehrere Jahre trotz Umpflanzung und Klimawechsel das gleiche Bild zeigt. Die Vergrünung betrifft lediglich die Staubblätter und läßt sie zu sekundären Blumenblättern werden (Abb. 5). Solche Umwandlungen von Staubgefäß in Blumenblätter treten bei gefüllten oder vielgliedrigen Blüten anderer Familien regelmäßig auf und zeigen z. B. bei *Nymphaea dentata hybrida* alle Übergänge vom Staubblatt über Staminodien bis zum Blumenblatt.

Mit der Umwandlung zum Blumenblatt korreliert beim Sylvaner-Typus ein Funktionswechsel, der bei der vorliegenden Form darin besteht, daß die primären Kronblätter als Hüllblätter ausgeschaltet werden und der Schutz des Fruchtknotens den umgewandelten Staubfäden als sekundäre Blumenblätter obliegt. Die primären Kronblätter bleiben nämlich auffallend klein, öffnen sich am apikalen Pol frühzeitig und bleiben im Kelchboden haften (Abb. 6). Der Sartoriusdiskus zwischen Kelch- und Kronblättern wird nicht ausgebildet. Ebenso fehlt die für normale Blüten charakteristische Einschnürung im basalen Teil der primären Kronblätter (vgl. Abb. 2). Die vergrünten Stamina sind verhältnismäßig groß und massig, bleiben in der Mehrzahl der Fälle lange Zeit miteinander verbunden, so daß es erst dann zum Öffnen der Blüte

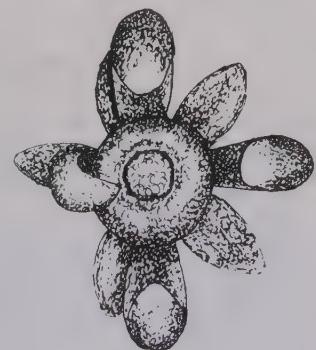


Abb. 5
Der Sylvaner-Typus der Verlaubung (nur die Staubfäden sind verlaubt)

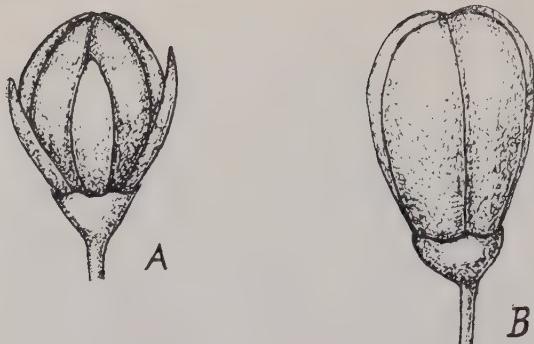


Abb. 6

- A. Verlaubte Blüte vom Sylvaner-Typus. Die Kronblätter haben sich bereits apikal geöffnet
 B. Noch geschlossene, normale Sylvanerblüte (Man achte auf die Größenunterschiede)

werden, d. h. solange fremder Pollen vorhanden ist, kommt es auch zur normalen Befruchtung und zum Beerenansatz. Das Abstoßen der vergrünten Blüten steht also nicht in einem direkten kausalen Zusammenhang mit der Verlaubung, sondern nur mittelbar als Folge fehlender Befruchtung infolge zu späten Blühens, was seinerseits durch den Funktionswechsel der Staubblätter in Verbindung mit ihrer Vergrünung bedingt ist.

Um diese Tatsache zu erhärten, wurde konservierter Pollen am 30. Juni über ein vergrüntes Geschein gebracht, das noch keine freien Fruchtknoten erkennen ließ. Alle Blüten, die sich noch öffneten, setzten normal an. Dabei zeigte es sich zugleich, daß eine große Anzahl vergrünter Blüten sich überhaupt nicht öffnete. Es besteht die berechtigte Annahme, daß bei den vergrünten Blüten infolge Fehlens normaler Staubgefäß mit der Beendigung physiologischer Vorgänge im Fruchtknoten der normale Öffnungsmechanismus und der Befruchtungsmechanismus nicht mehr voll funktionieren, womit auch gleichzeitig die verspätete Blüte ihre Erklärung finden dürfte.

Es ist auffallend, daß die Perianthblätter makroskopisch offensichtlich mit den vergrünten Staubblättern alternieren. Betrachtet man jedoch die geöffnete Blüte genauer mit der Lupe und nachdem sich die Staminodien geöffnet haben, so stellt man

und damit zur Freigabe der Narbe kommt, wenn die allgemeine Blühperiode normaler Rebstücke schon längst beendet ist. Eine Befruchtung kann dann nicht mehr erfolgen. Infolgedessen werfen die Gescheine die vergrünten Blüten bald ab und sterben selbst ab, obgleich die Ausbildung des Fruchtknotens und damit die der Narbe und der Samenanlagen ganz normal ist (Abb. 7).

In allen Fällen nämlich, in denen die Narben während der allgemeinen Blütezeit frei

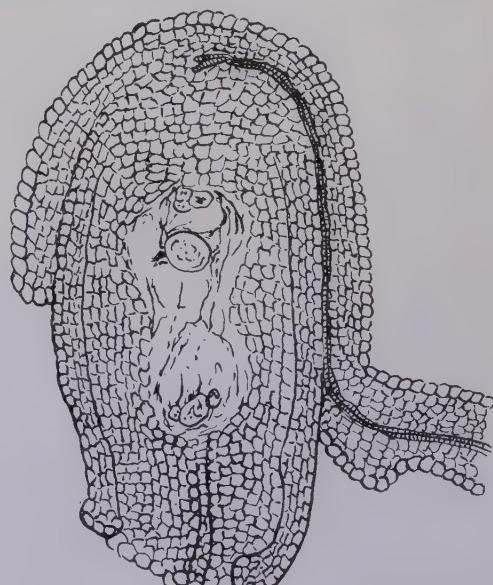


Abb. 7
 Normale Samenanlage in einer vergrünten Sylvanerblüte

fest, daß die Alternation nicht vollständig ist, sondern offenbar eine sekundäre Erscheinung, die mutmaßlich mit den verschieden starken Abwandlungen der primären und sekundären Blütenblätter in Beziehung gebracht werden kann (vgl. Abb. 5). Auf eine Feststellung muß in diesem Zusammenhang noch hingewiesen werden. Während bei normalen Blüten eine erhöhte Staubfädenzahl öfter gefunden wird als eine reduzierte, macht man bei den vergrünten Blüten des Sylvaners die umgekehrte Beobachtung. Bis jetzt konnten in keinem Falle mehr als 5 vergrünte Staubblätter entdeckt werden, dagegen treten sie in der 4-Zahl relativ oft auf (Abb. 5). Wenn sie in der 4-Zahl vorhanden sind, stehen sie durchweg über Kreuz.

Auch vom genetischen Gesichtspunkt ist die Ausschaltung der männlichen Sexualorgane von Interesse, da die hermaphrodite Blüte zu einer rein weiblichen geworden ist. Wie frühere Versuche ergeben haben (Breider-Scheu 1937), ist der sekundäre hermaphrodite Sylvaner heterozygotisch XY, wie die rein männlichen Typen der Wildarten. Die Weibchen sind homozygot XX. Die normalen weiblichen Typen sind aber nur funktionell weiblich, d. h. sie bilden den Staubblattkreis mit morphologisch vollkommenen Staubfäden aus. Der Pollen ist steril (Kaczmarek 1938). Im Falle des verlaubten Sylvaners aber ist genetisch oder milieurbedingt die Wirkung des Realisators für das männliche Geschlecht vollkommen ausgeschaltet worden, so daß der Sekundärhermaphrodit zu einem morphologisch und physiologisch vollwertigen Weibchen geworden ist, aber genetisch ein Männchen darstellt. Die genetischen und physiologischen Grundlagen der zur Debatte stehenden Verlaubung nach dem Sylvaner-Typus werden experimentell geprüft.

5. Der Kleinberger-Typus der Verlaubung

Der Kleinberger-Typus der Verlaubung stellt die extremste Form der Vergrünung dar, da sämtliche Blütenorgane verlaubt sind. Die Blumenkronblätter treten in einem doppelten Blattkreis auf und stehen obstaminal. Ebenfalls obstaminal ordnen sich die immer verlaubten Staubblätter ein, denen intrastaminal der verlaubte Nektariendiskus folgt. Schließlich machen auch die Fruchtknotenblätter von der allgemeinen Verlaubung keine Ausnahme, womit sie sowohl ihre Zweizähligkeit zugunsten der stammesgeschichtlich ursprünglicheren Fünfzähligkeit als auch ihre Fähigkeit, Samenanlagen zu entfalten, aufgegeben haben. Eine derartig allgemein verlaubte *Vitis vinifera*-Blüte macht durchaus den Eindruck einer gefüllten Rose, weshalb diese Art der Vergrünungen in der Praxis auch als „Röschen“ bezeichnet wird (Abb. 8).

Damit aber sind die Entwicklungsmöglichkeiten dieser Art verlaubter Blüten keineswegs erschöpft. Mit der Beendigung der allgemeinen Blühperiode setzt sich nunmehr das Teilungswachstum des Vegetationskegels fort, der einen Blattwirbel nach dem anderen entwickelt. Es konnten in einer derartig vielfach gefüllten Blüte bis zu 175 Blättchen, das sind 35 Blattquirle oder

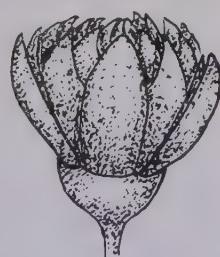


Abb. 8
Der Kleinberger-Typus
der Verlaubung

7 gefüllte Blüten, gezählt werden. Abb. 9 vermittelt als Längsschnitt einen Einblick in die Struktur einer im Wachstum der Verlaubung fortschreitenden Blüte des Kleinbergers.

Blätter entstehen bekanntlich nur an den Knoten. Darum müssen wir weiter schließen, daß

1. der Blütenboden einen Knotenkomplex darstellt und
 2. jedem Blattwirbel des verlaubten Kleinbergers ein Knoten entsprechen muß.
- Die Achse der in Abb. 9 skizzierten verlaubten Blüte setzt sich demnach aus

lauter Knoten zusammen, die durch auf ein Minimum gestauchte Internodien miteinander verbunden sind.

Physiologisch bedeutet das fortschreitende Wachstum der verlaubten Blüte für das Geschein wie für die Rebe das gleiche wie eine im Dickenwachstum begriffene Beere. Während beim Sylvaner-Typ die unbefruchteten Frukt-knoten abfallen, bleiben die Gescheine des Kleinbergers

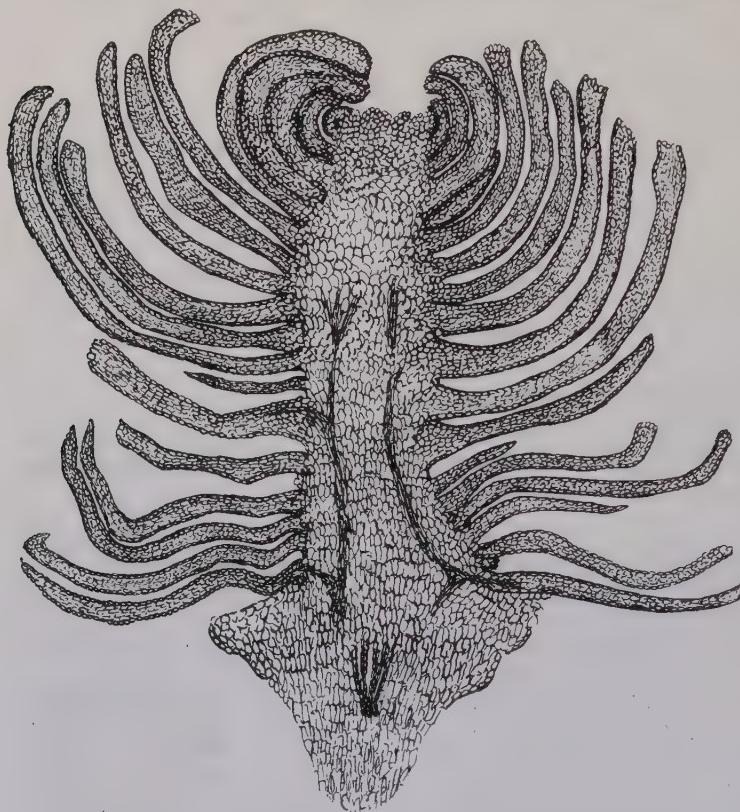


Abb. 9

Vergrünte Blüte des Kleinberger-Typus im Längsschnitt (Vergr. 10×)

vollkommen erhalten und die Blüten setzen als Verlaubung ihr Wachstum bis zum Eintritt der allgemeinen Beerenreife fort, um zugleich mit der normalen überreifen Beere zu vergilben und abzufallen. Man kann am Fortgang der Vergilbung der verlaubten Blütenblättchen den Verlauf der allgemeinen Beerenreife direkt ablesen.

Während sich das Wachstum der Beere in der Ausbildung ihrer Form und Größe ausprägt, geschieht das beim Kleinberger-Verlaubungs-Typ in der Entwicklung immer neuer Blättchen und in der Streckung einzelner Internodien sowie in der Bildung von Verzweigungen. Infolgedessen findet man

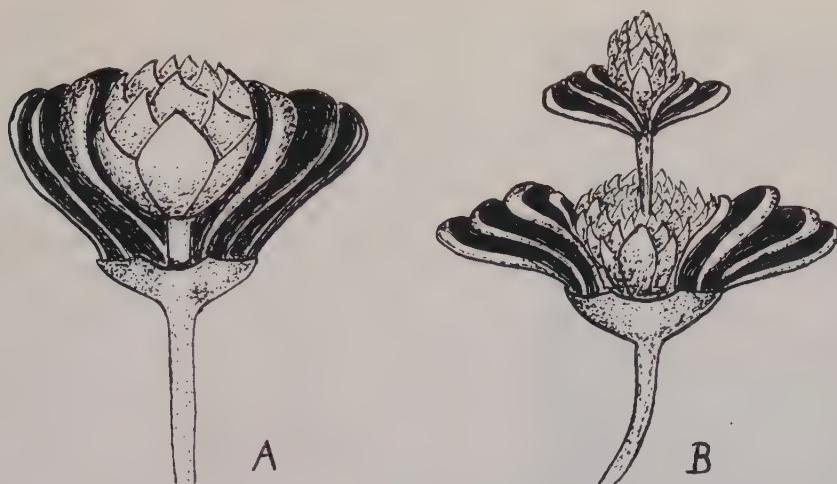


Abb. 10

Zwei verschiedene Stadien der „Internodienstreckung“

A. nach Bildung der Blüte I. Ordnung. B. nach Bildung von Blüten I.—IV. Ordnung

gegen Ende des Monats Juli bzw. Anfang August neben einfachen „Röschen“ auch solche Blüten, deren Internodien vereinzelt eine Streckung erfahren haben und ihre Verzweigung nach Art des *Vitis*-blütenstandes vollziehen (Abb. 10). Es ist nun nicht die Regel, daß jeweils nach jedem theoretisch vorhandenen Knoten das angenommene Internodium sich streckt, sondern dies geschieht frühestens erst nach dem Knotenkomplex der Blüte I. Ordnung. Vielfach bleiben aber auch die Blüten der I.—IV. Ordnung eng miteinander verbunden; erst nach mehreren Knoten zeigt sich die Streckung eines Internodiums. Ebenso kann die Verzweigung von jedem beliebigen Knoten ausgehen.

Die Richtigkeit unserer Beobachtungen zeigen die Abb. 11, 12 und 13, die vergrünte und verzweigte Blüten, besser gesagt: Blütenstände II. Ordnung des Kleinbergers darstellen. In Abb. 11 ist das Längenwachstum der Blütenachse im ersten Internodium nach der Blüte I. Ordnung besonders gut aus geprägt. Die verlaubten Organe der Primärblüte ordnen sich deutlich gesondert um den ersten Knotenkomplex.

In der Abb. 12 erfolgt vom ersten Knotenkomplex die erste Verzweigung in der Blüte I. Ordnung. Abb. 13 zeigt einen Blütenstand II. Ordnung, in dem zugleich mit dem Wachstum

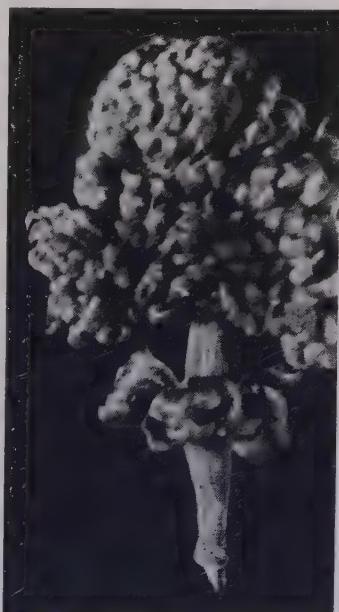


Abb. 11
Verlaubte Blüte des Kleinberger-Typs. Deutlich erkennbare Streckung des Internodiums nach Blüte I. Ordnung. Vielfache Verzweigung in den Blüten II. bis n-ter Ordnung



Abb. 12

Verlaubte Blüten des Kleinberger-Typus. Unten rechts: eine noch geschlossene Blüte. Unten links: Die Röschenform des Kleinbergers. Oben: Deutlich verzweigter Blütenstand II. Ordnung mit Verzweigung von der Blüte I. Ordnung aus

eines Internodiums eine doppelte Verzweigung bei gleichzeitiger Längsstreckung des Internodiums stattgehabt hat. Die Verzweigung braucht nicht immer mit einer deutlich makroskopisch sichtbaren Ausbildung eines Internodiums zu erfolgen. Sie ist auch nicht immer gegenständig, sondern kann schraubenförmig erfolgen. Abb. 11 stellt einen verlaubten Blütenstand II. Ordnung dar, der vielfach verzweigt ist und bei dem die Blütchen n-ter Ordnung nur durch ein sehr kleines Internodium dem Knoten aufsitzen. Aus dem Gesagten ist zu entnehmen, daß bei einer Verlaubung nach dem Kleinberger-Typus niemals Frucht angesetzt werden kann, weil niemals Geschlechtsorgane angelegt werden. Der Kleinberger ist in seiner genetischen Form ein funktionsfähiger sekundärer Zwitter, vermutlich heterogametisch XY. Im sekundär asexuellen Typ aber, d. h. in der verlaubten Form, bleiben die Geschlechtsfaktoren infolge einer genetisch oder milieuedingten physiologischen Störung

für ihn ohne Bedeutung. Sie können ihre Wirkung erst dann entfalten, wenn der physiologische Stoffwechsel wieder normal funktioniert. Dieses Beispiel demonstriert recht klar die Tatsache, daß Erbfaktoren in Organismen kryptomer vorhanden sind, die bei Abänderung der Stoffwechselvorgänge Wirkungen und Merkmale zu entfalten vermögen, die für den Fortbestand einer Sippe oder Art und ihre weitere Entwicklung von besonderer und grundsätzlicher Bedeutung werden können.

6. Der St. Laurent-Triumph-Typus der Verlaubung

Stellten der Sylvaner- und der Kleinberger-Typus der Verlaubung in sich klare Formen dar, so finden wir im St. Laurent-Triumph-Typus ein treffendes Beispiel für die Mannig-



Abb. 13
Verzweigte und verlaubte Blüten I. bis n-ter Ordnung. Verzweigung erfolgt erst in der Blüte III. Ordnung

fältigkeit der möglichen Abweichungen und Verlaubungen, wie insbesondere für die Wege, die innerhalb der organismischen Entwicklung möglich sind. Die Rebsorte St. Laurent-Triumph ist ein F_1 -Bastard der Kreuzung: St. Laurent als Mutter \times Triumphrebe als Vater. Während die übrigen F_1 -Individuen sämtlich normale Blüten entwickeln und somit Frucht ansetzen, zeichnet sich der S. 39 985, mit welcher Zahl der zur Debatte stehende Stock in unseren Zuchtbüchern geführt wird, dadurch aus, daß nicht nur unter normalen Blüten verlaubte Blüten verschiedenen Grades auftreten, sondern teils auch das eine der zwei Fruchtblätter sich zur Beere verdickt hat, während das andere in den Verlaubungsprozeß einbezogen ist, teils makroskopisch vollkommene Beeren entwickelt, die im Inneren statt Kerne grüne Blätter besitzen. So finden wir bei diesem Typus neben allen Übergängen der Verlaubung gleichzeitig alle Übergänge von Abweichungen in der Form und Ausbildung der Beere.

Der St. Laurent Triumph-Typus der Verlaubung ist nicht einfach zu beschreiben, weil Abweichungen in jedem Blütenorgan sowohl in qualitativer wie in quantitativer Beziehung und alle Übergänge der Verlaubung von der normalen *Vinifera*-Blüte bis zum extremen Kleinberger-Typus vorkommen.

Der Kelch unterliegt nicht der Abweichung. Dagegen wird der „Sartoriusdiskus“ zwischen Kelch- und Kronblattkreis nicht bei allen Blüten entwickelt (vgl. Abb. 2). Damit in Übereinstimmung steht die Beobachtung, daß einige Blüten ihre Kronblätter im Blütenboden nicht lösen können und infolgedessen sich apikal öffnen.

Der Kronblattkreis ist entweder in seiner Anlage wie beim Kleinberger-Typus verdoppelt oder einfach ausgebildet. In beiden Fällen wird er bei ausgebildetem „Sartoriusdiskus“ als „Mützchen“ wie bei normalen Blüten im Blütenboden gelöst, ohne jedoch immer abgeworfen zu werden (Abb. 15). Vielmehr bleibt er oft auf der Narbe haften und vertrocknet. Das ist vorwiegend dann der Fall, wenn der Staubblattkreis nicht normal ausgebildet und funktionsfähig ist, was meist beobachtet werden kann. Blüten mit 5 normalen Staubfäden sind recht selten. Es werden vielmehr folgende Abweichungen in ein und derselben Blüte gefunden (vgl. Abb. 14—17):

1. 1—4 normale Staubfäden.
2. Normale Staubfäden und Staminodien.
3. Alle möglichen Kombinationen:
 - a) normale Staubfäden mit normal ausgebildeten Pollensäcken und Pollen (Abb 16);
 - b) normale Staubfäden mit deformiertem Pollensack;
 - c) vollkommen verlaubte Staminodien mit deformierten Pollensäcken;
 - d) verlaubte Staminodien, bei denen die Blattachse als Staubfaden normal ausgebildet ist und normale Pollensäcke trägt;
 - e) Staminodien, die zur Hälfte den Fruchtknoten umhüllen und am apikalen Pol die Anlage eines Pollensackes erkennen lassen (Abb. 17);
 - f) vollständige Verlaubung sämtlicher vorhandener Staubfäden (vgl. Sylvaner- und Kleinberger-Typus).

Mit dem Grade und dem Umfang der Verlaubung, bzw. der Abweichung von der normalen Anordnung der Staubfäden hängt der Öffnungsmechanismus ursächlich zusammen. Das zeitige Abwerfen des „Mützchens“, das sich mit

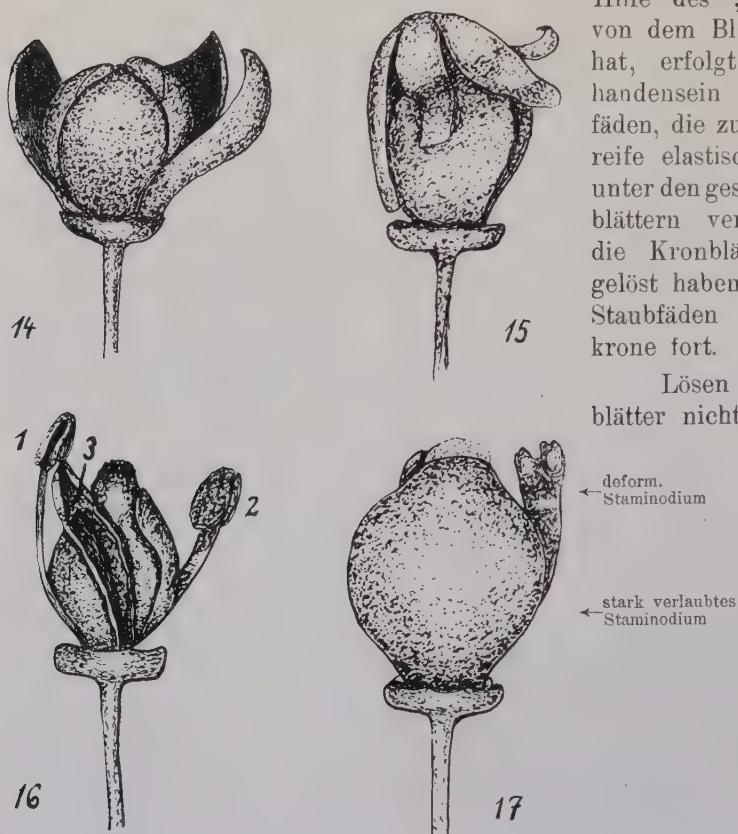


Abb. 14—17

Verschiedene Typen des verlaubten St. Laurent-Triumph-Typus. S. Nr. 39975

Abb. 14. Kronblätter lösen sich nicht basal, öffnen sich apikal, Staminodien mit nicht differenziertem Pollensack, mit Fruchtknoten verwachsen

Abb. 15. Blüte löst sich basal als Mützchen, wird aber nicht abgeworfen, da Staminodien zu sehr vergrünt sind

Abb. 16. Blüte mit verschiedenen stark reduzierten Staminodien. 1. Normaler Staubfaden. 2. Blattrippe als Staubfaden mit Pollensack. Staminodium legt sich an den Fruchtknoten. 3. Staminodium mit Anlage der Pollensäcke

Abb. 17. Blüte mit Staminodium, das den Fruchtknoten halb umschließt, trotzdem mit Anlage des Pollensacks

schlossen, bis die allgemeine Blühperiode normaler Blüten beendet ist, wie wir das bereits beim Sylvaner-Typus der Verlaubung kennengelernt haben. Darüber gibt folgende Korrelationstabelle einen interessanten Aufschluß. Es sind 100 Blüten eines Gescheins nach der allgemeinen Blütezeit (24. Juni 1948)

Hilfe des „Sartoriusdiskus“ von dem Blütenboden gelöst hat, erfolgt nur bei Vorhandensein normaler Staubfäden, die zur Zeit der Blühreife elastisch und gespannt unter den geschlossenen Kronblättern verharren. Sobald die Kronblätter sich basal gelöst haben, schleudern die Staubfäden die Blumenkrone fort.

Lösen sich die Kronblätter nicht, so werden sie apikal durch die darunterliegenden Antheren und vermutlich durch den zur Zeit der Befruchtungsreife sich prall füllenden Fruchtknoten zum Öffnen gebracht. In diesen Fällen ist eine Befruchtung durch fremde wie durch eigene Pollen noch gesichert. Sind alle Staubfäden verlaubt, so bleibt in der Mehrzahl der Fälle die Blüte so lange ge-

daraufhin untersucht, ob sie geschlossen oder bereits apikal geöffnet waren. Gleichzeitig wurde festgestellt, wieviel normal ausgebildete Staubfäden sich in der Blüte befanden. Die Zahl 0 bedeutet die Verlaubung sämtlicher Staubfäden.

Korrelationstabelle I

Antherenzahl Blüte	Normale Antheren						n_{xi}	a_i	$n_{xi} \cdot a_i$	$n_{xi} \cdot a_i^2$	s_{xi}	$s_{xi} \cdot a_i$
	0	1	2	3	4	5						
geschl. 0	53	1	1	0	0	0	55	0	0	0	-52	0
geöffnet 1	11	16	8	9	0	1	45	1	45	45	+19	+19
$n_y K \dots$	64	17	9	9	0	1	$n=100$		$p=45$		$q=45$	
$\beta K \dots$	-1	0	+1	+2	+3	+4						
$n_y K\beta K$	-64	0	9	18	0	4	$p'=-33$					
$n_y K\beta K^2$	+64	0	9	36	0	16	$q'=125$					
$t_y K \dots$	11	16	8	9	0	1						
$t_y K\beta K$	-11	0	8	18	0	4	$r=+19$					

$$\kappa = \frac{r}{n} - \frac{p \cdot p'}{n}$$

Korrelationskoeffizient $\kappa = 0,642$

$$\sigma_{x2} = \frac{q}{n} - \left(\frac{p}{n} \right)^2$$

mittlerer Fehler $f\kappa = 0,058$

$$\sigma_{y2} = \frac{q'}{n} - \left(\frac{p'}{n} \right)^2$$

Der Korrelationskoeffizient beträgt: — 0,64

bei einem mittleren Fehler von -- 0,058,

d. h. aber, mit einer Wahrscheinlichkeit von 64% sind die Staubfäden am Öffnungsmechanismus der Blüte beteiligt. Der Befund, daß einerseits auch am 24. 6. noch geschlossene Blüten normale Antheren entwickelt hatten, anderseits von 45 geöffneten 11 Blüten nur verlaubte Staminodien hatten, verlangt den Schluß, daß auch noch ein von der Entwicklung bzw. vom Vorhandensein der Staubfäden unabhängiger Mechanismus existieren muß, der erst in Kombination mit dem Antherenmechanismus das Öffnen der Blüte bewerkstellt. Es ist anzunehmen, daß er in einem physiologischen Vorgang innerhalb des Fruchtknotens gelegen ist, worauf die Beobachtungen am vergrünten Sylvaner-Typ hinweisen.

Nach diesen Feststellungen wird die Blüte der Rebe durch folgenden Vorgang eingeleitet: Der „Sartoriusdiskus“ schnürt die Kronblätter basal ab, der pralle Fruchtknoten sprengt sie bis zum apikalen Pol auseinander, und die Staubfäden, da sie vor den Kronblättern obstaminal stehen, schleudern das Mützchen ab.

Versagt einer dieser korrelativ aufeinander abgestimmten Mechanismen, verläuft die Blüte anormal.

Der Fruchtknoten und die Vorgänge in ihm verlangen beim St. Laurent-Triumph-Typus der Verlaubung eine besondere Aufmerksamkeit. Die Fruchtknotenblätter sind im allgemeinen in der 2-Zahl vorhanden. Samenanlagen

werden, wenn überhaupt vorhanden, in der Zahl 1—4 angelegt und sind teilweise befruchtungsfähig. Sofern die Fruchtknotenblätter sich nicht frühzeitig öffnen, ist die Narbe normal und funktionsfähig. Das Auftreten normaler Antheren ist kein Beweis für das Vorhandensein von Samenanlagen. Die Bildung von Staubfäden und Samenanlagen verläuft unabhängig voneinander, wie Abb. 18 und folgende Tabelle zeigt:

Lfd. Nr.	Antheren insgesamt	normal	anormal	Samenanlagen
1	1	—	1	1
2	4	2	2	—
3	2	—	2	1
4	1	1	—	—
5	2	1	1	1
6	2	2	—	—
7	3	1	2	—
8	3	—	3	—
9	—	—	2	3
10	3	1	—	—

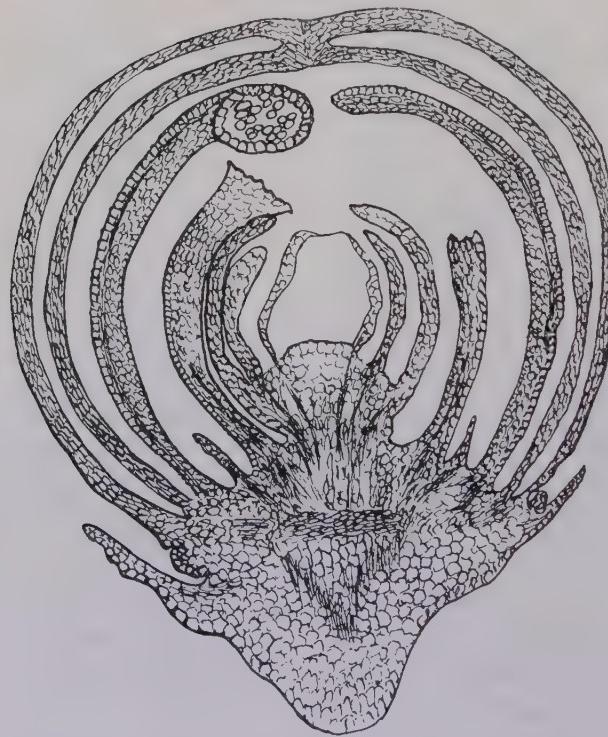


Abb. 18

Längsschnitt durch eine verlaubte Blüte des St. Laurent-Triumph-Typus. S. Nr. 39975 mit doppeltem Kronblattkreis, „Sartorius-diskus“, Pollensäcken, die aber nur vereinzelt an Staminodien entwickelt sind. Ohne Samenanlagen. Im Fruchtknoten I. Ordnung. Anlage der Blüte II. Ordnung

Vielfach bleiben die Samenanlagen je nach dem Grad der Verlaubung in den ersten Entwicklungsstadien stecken. Man beobachtet dann lediglich Aussackungen des Fruchtknotenblattes, wie es Abb. 19 demonstriert. Eine Differenzierung des embryonalen Gewebes erfolgt nicht mehr. Der Vegetationspunkt im Fruchtknotenboden stellt weder mit der Bildung der Blüte noch nach erfolgter Befruchtung der Samenanlagen I. Ordnung sein Wachstum ein, sondern schreitet in der Bildung von Blüten II. bis n-ter Ordnung und in der Verlaubung fort. So kommt es, daß man in einem makroskopisch und funktionell normalen Fruchtknoten die Anlage

einer Blüte II., in dieser wieder eine Blüte III., in dieser eine Blüte IV. usw. Ordnung findet, die sich nicht nur wie beim Kleinberger-Typ., auf eine Anlage verlaubter Blütenorgane beschränkt, sondern sogar Pollensäcke, Pollenmutterzellen und Pollenkörper wie auch Samenanlagen entwickelt (Abb. 20). Die Samenanlagen II. bis n-ter Ordnung sind zwar kleiner als die I. Ordnung, aber histologisch und zytologisch in nichts von den Samenanlagen I. Ordnung zu unterscheiden. Sie zeigen deutlich die Chalaza, das äußere und innere Integument und schließlich den Embryosack mit Eikern und den Synergiden.

Mit diesen Befunden hat die von uns bei der Besprechung des Kleinberger-Typus der Verlaubung ausgesprochene Anschauung über die Morphologie und Entwicklung der verlaubten Blüten eine glänzende Bestätigung gefunden, die für die allgemeine Anschauung der Formbildung von Bedeutung sein kann.

Wenn die Samenanlagen I. Ordnung befruchtet worden sind und der Fruchtknoten I. Ordnung sich zur Fruchtbildung geschlossen hat, kann sich die Blüte II. Ordnung naturgemäß zunächst nicht entfalten. Oft entwickelt sich die ganze Beere bis zur Reife, und man findet dann entweder nahezu keine grünen Blätter oder nur grüne Blätter in der Beere. Meist beobachtet man aber, daß die im Dickenwachstum begriffene Beere aufplatzt und die Blütenachse aus der Beere die Blüten II. bis n-ter Ordnung herausschiebt. Diese sind dann je nach dem Umfang der Verlaubung wie der Kleinberger-Typus vollkommen verlaubt oder entfalten Staminodien und Fruchtknotenblätter mit den Geschlechtsorganen.



Abb. 19

Verlaubte Blüte des St. Laurent-Triumph-Typs. S. Nr. 39975 (Querschnitt). (Kreise von außen nach innen.)

1. Kreis = Kronblattkreis
2. Kreis = Staubfädenkreis
3. Kreis = Nektarien, nicht im Schnitt getroffen
4. Kreis = Fruchtknotenblätter mit embrionalen Samenanlagen
5. bis n-ter Kreis = Anlagen der Blüten 2. bis n-ter Ordnung

7. Diskussion und Schluß

In der vorliegenden kurzen Darstellung habe ich mich vorwiegend auf eine beschreibende vergleichende kurze Übersicht der bei der Weinrebe auftretenden Blütenverlaubungen beschränkt, ohne die mannigfaltigen Verschiedenheiten der Entwicklung der ineinandergeschachtelten Blüten I. bis n-ter Ordnung

zu erwähnen. Für diese histologisch-zytologischen Untersuchungen liegt bereits reichhaltiges Material vor, das uns Aufschluß gibt über den Modus des weiteren Wachstums der Blütenachse, ihrer Verzweigung und der Entwicklung der Blüten, ihrer Verlaubung und ihrer Geschlechtsorgane. Denn in der Tat findet man in den Blüten steigender Ordnung nicht nur alle Grade der Ver-

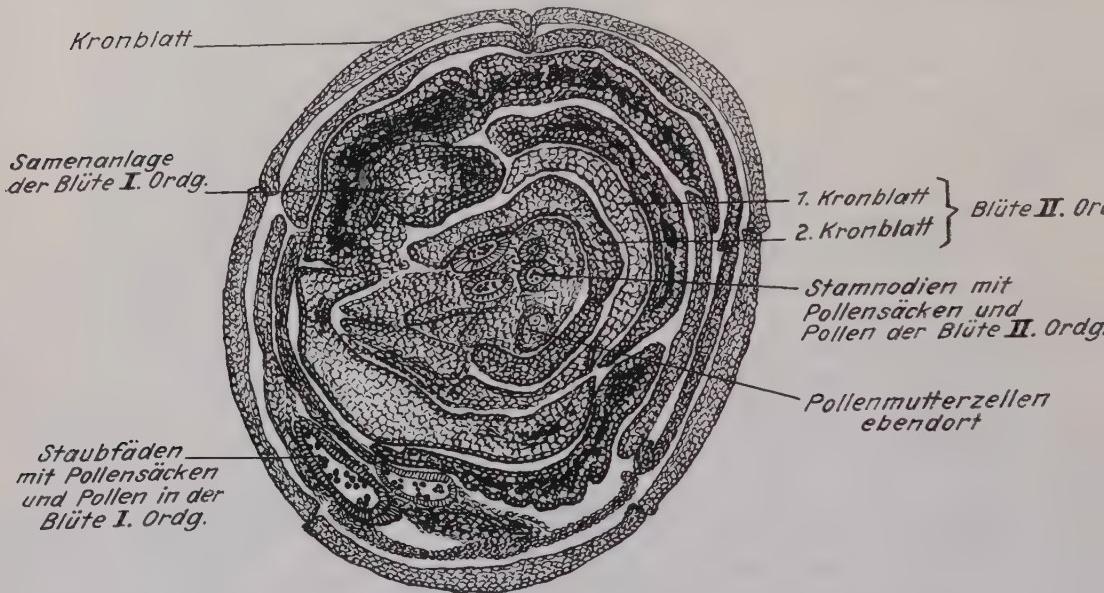


Abb. 20

Querschnitt durch eine Blüte des St. Laurent-Triumph-Typus. S. Nr. 39975. Objekträger Nr. 30. Pollenbildung in Blüten I. und II. Ordnung

laubung, sondern auch die verschiedensten Stufen der Entwicklung der Sexualorgane. Dabei ist keineswegs das Vorhandensein von Samenanlagen und Pollensäcken in der Primärblüte für die Entwicklung dieser Fortpflanzungsorgane in den Blüten höherer Ordnung Voraussetzung. Bis jetzt konnte, um nur ein Beispiel herauszustellen, festgestellt werden, daß die Blüten I. bis IV. Ordnung vollständig verlaubt waren und die Blüte V. Ordnung eine Samenanlage zu entwickeln im Begriffe stand.

Alle diese Aussagen beziehen sich aber auf den St. Laurent-Triumph-Typus der Verlaubung und nicht auf den des Kleinbergers. In diesem Falle liegt, wie aus der Darstellung auch wohl klar hervorgeht, eine hundertprozentige Verlaubung sämtlicher Blüten vor. Die Verlaubung kann bei einzelnen Blütenorganen morphologisch und physiologisch vollständig sein, was in der Entwicklung von grünen Blättchen im Fruchtknoten n-ter Ordnung am Auftreten von Spaltöffnungen erkannt werden kann.

Ohne uns in eine Spekulation über die Vorgänge der Organentwicklung oder des stammesgeschichtlichen Werdeganges der Rebenblüte einzulassen, ehe nicht das reichhaltige Material nach allen möglichen Richtungen hin geprüft worden ist, sei nur bemerkt, daß wir erst durch den Vergleich der

mannigfältigen Verlaubungsvorgänge in die Lage versetzt werden, Untersuchungen und Experimente in der oben angedeuteten Richtung anzusetzen.

So interessant die Probleme und ihre Bearbeitung und Lösung für die allgemeine theoretische Biologie sind, so wesentlich erscheinen sie mir aber auch von Bedeutung für den praktischen Weinbau. Es ist wert, daß hier einmal darauf hingewiesen wird, wie aus scheinbar ganz nebensächlichen und untergeordneten Beobachtungen grundsätzliche Fragen für die theoretische und angewandte Biologie entstehen und gelöst werden können. Man geht nicht fehl, wenn man in diesen Untersuchungen über Abnormitäten der Rebenblüte den Ausgangspunkt zu finden annimmt, von dem aus das so wichtige Problem der Ertragssicherheit und des Durchrieselns gelöst werden kann. Es ist auch jetzt schon klar, daß diese Frage einen ganzen Komplex von Unklarheiten in sich vereinigt, von denen nur Probleme des Standortes, der Pflege, Erziehung und Düngung, des physiologischen Stoffwechsels und als wesentlichste der Genetik der Rebe erwähnt seien. Jedenfalls gibt uns der Verlauf unserer bisherigen Beobachtungen und Ergebnisse eine Unmenge von Fragen auf, aber auch die berechtigte Hoffnung, ihre Lösung herbeiführen zu können, in einer neuen, ungehemmt und frei sich entfaltenden Weinbau-forschung zum Segen des gesamten Weinbaues.

Zusammenfassung

1. Es wurden drei Typen der Verlaubung bei Rebenblüten beschrieben und zwar: a) der Sylvaner-Typ,
b) der Kleinberger-Typ,
c) der St. Laurent-Triumph-Typ.
2. Alle drei Typen zeichnen sich durch verschiedene Verlaubungsgrade aus: beim Sylvaner-Typ sind nur die Staubfäden vergrünnt. Die Blüten des Kleinbergers sind vollkommen vergrünnt, Geschlechtsorgane werden nicht mehr gebildet, die Blütenachse setzt ihr Wachstum fort, bildet verlaubte Blüten bis n-ter Ordnung und zeigt Verzweigung. Der St. Laurent-Triumph-Typ schließlich bildet neben vollständig verlaubten Blüten auch normale Blüten, neben verlaubten Sexualorganen auch normale in einer und derselben Blüte wie in den Blüten verschiedener Ordnung aus.
3. Die Entwicklung der männlichen und weiblichen Sexualorgane geht bei der zwittrigen Rebe unabhängig vor sich.
4. Der Öffnungsmechanismus der Blüte wird demonstriert.
5. Auf die Bedeutung der Untersuchungen verlaubter Blüten und Blütenorgane für die Theorie und Praxis wird hingewiesen.

Literaturverzeichnis

- Boas. Dynamische Botanik, 2. Aufl. München 1942.
 Breider, H. und Scheu, H. Die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts innerhalb der Gattung *Vitis*. Gartenbauwissenschaft. **11**, 627—674, 1938.
 Kroemer. Anatomie und Physiologie der Rebe. Weinbaulexikon. Berlin 1930.
 Kaczmarek, A. Zur Frage der Keim- und Befruchtungsfähigkeit des Pollens der weiblichen Rebblüte. Gartenbauwissenschaft. **11**. Berlin 1938.
 Penzig, O. Pflanzenteratologie. Berlin.
 Sartorius, O. Zur Entwicklung und Physiologie der Rebblüte. Angew. Bot. **8**, 29—62, 65—89, 1926.
 Troll, W. Allgem. Botanik. Stuttgart 1948.

Kurze Mitteilungen

Eine ernste Bedrohung der Teekultur Indonesiens durch *Exobasidium vexans* Mass.

Von

Dr. H. A. Uschdraweit, Biologische Zentralanstalt, Berlin-Dahlem

Aus Sumatra kommt die Nachricht von dem Auftreten einer für Indonesien neuen Krankheit des Teestrauches (*Het Nieuwsblad voor Sumatra* 1, Nr. 271 und Nr. 281, 1940). Diese Krankheit ist aus Assam seit langem als „blister blight“ bekannt. Sie trat dort in einem verhältnismäßig kleinen Gebiet ohne größeren Schaden endemisch auf; die gelegentlichen schweren Schädigungen in den Jahren 1895, 1900 und 1906, durch klimatische Umstände bedingt, erregten kaum Besorgnis. Erst das plötzliche, sehr heftige Auftreten dieser Krankheit in den besten Teegegenden von Darjeeling im Jahre 1908 lenkte die allgemeine Aufmerksamkeit auf diese Krankheit, die in den feuchten Regionen dieses Landstriches günstige Bedingungen für ihre Entwicklung fand und in wechselndem Maße eine ständige Bedrohung blieb.

Die ersten Symptome, die mit dem Beginn der Regenzeit auftraten, sind kleine blasse, gelegentlich rosa oder rote runde Flecken auf den Blättern, die sich rasch bis zu einem Durchmesser von $\frac{1}{2}$ bis $1\frac{1}{2}$ cm vergrößern. Die Oberseite dieser Flecken erscheint glänzend, die Unterseite matt, grau und mehlig, später reinweiß und wollig. Die Oberfläche senkt sich zu einer flachen Aushöhlung, so daß die Unterseite eine konvexe Aufreibung erfährt. Seltener tritt diese Aufreibung auf der Oberfläche des Blattes auf. Später werden die Flecken dunkelbraun und schrumpfen zusammen. Nur jüngere Blätter, Blattnäpfe und grüne Zweige werden befallen. Auf den Trieben entwickeln sich keine Aufreibungen, das befallene Gewebe ist nur leicht verdickt. Die Erkrankung junger Zweige führt zu einem Absterben des gesamten Austriebes und damit der erntbaren Blattmasse. Schwerer Befall vernichtet die Ernte für die nächsten Jahre, leichterer Blattbefall zum mindesten die des laufenden Jahres und führt zu einer Schwächung des Strauches. Der Erreger ist *Exobasidium vexans* Mass., ein Basidiomyzet aus der Familie der *Exobasidiaceae*. Die Verbreitung geschieht vor allem durch den Wind, und zwar durch Konidien und Basidiosporen in einem so rapiden Tempo, daß in kürzester Zeit die ganze Teeanpflanzung befallen ist. Diese keimen auf der Unterseite des Blattes aus und dringen durch die Spaltöffnungen in das Schwammparenchym, in dem sich das Myzel entwickelt. Etwa 11 Tage nach der Infektion zeigen sich die ersten Krankheitserscheinungen, in weiteren 6–8 Tagen sind die Aufreibungen ausgebildet und es entwickeln sich Sporen. Ein Dauerstadium ist nicht bekannt.

Die aus Assam und Darjeeling bekannten Erscheinungen wiederholten sich 1946 in Südindien und Ceylon. — Ende April 1949 traten auf einer Unternehmung der Ostküste Sumatras die ersten Anzeichen dieser gefährlichen Krankheit auf, die sich in rasender Schnelligkeit verbreitete. In kürzester Zeit waren 9 Unternehmungen von den 13 der Umgebung von Siantar befallen. — Eine Bekämpfung

ist nur sehr schwer möglich. Schon in Indien hatte man mit Spritzungen versucht, der Krankheit Herr zu werden, jedoch waren die Erfolge wenig befriedigend. In Sumatra bemüht man sich mit allen Mitteln, gegen die Krankheit vorzugehen. Man schneidet das befallene junge Laub ab und vernichtet es, außerdem spritzt man mit Kupfervitriolkalkbrühe. Auch durch Veränderung der Kulturmaßnahmen wie Verkürzung der Zeit zwischen den Pflückperioden, Beschränkung der Hauptpflückzeit auf die Regenzeit, neue Schnitt- und Pflückmethoden u. a. hofft man Erfolge erzielen zu können. Eine besondere Schwierigkeit ergibt sich bei den Spritzungen durch den Kupferniederschlag auf den Blättern. — Schon aus Indien ist bekannt, daß verschiedene Sorten unterschiedlich auf eine Infektion reagieren, so daß vielleicht durch Resistenzzüchtung Erfolge erreicht werden können. Die Intensität der Bekämpfung wird durch den Mangel an Arbeitskräften und Apparaten gehemmt, man hofft jedoch, in der Zukunft mit Motorspritzen arbeiten zu können. Es muß mit allen Mitteln versucht werden, die Krankheit auf Sumatra zu beschränken. Eine Verschleppung nach Java würde sehr schwerwiegende Folgen haben, da dort etwa 40 % der gegenwärtigen Produktion aus Anpflanzungen der einheimischen Bevölkerung kommt, in denen eine Bekämpfung nur sehr schwierig durchzuführen wäre. Viele Unternehmungen würden auch infolge der unsicheren politischen Lage eingreifende Maßnahmen nicht durchführen können.

Die Bedeutung der Kultur erhellt aus folgenden Zahlen: Die Produktion 1948 von Indonesien betrug etwa 13000 t, davon 1000 an der Ostküste Sumatras, mit einem Ausfuhrwert von Fl. 20000000. Für 1949 wird die Produktion auf 25000 t geschätzt.

Die holländischen Gelehrten schlagen als holländischen Namen „theepokken“ oder „bladpokken“ vor und nicht den Ausdruck „blaasjeschimmel“ (Bläschenpilz), der eine wörtliche Übersetzung des englischen „blister blight“ wäre.

Literatur

Butler, E. J. Fungi and Disease in Plants. Thacker, Spink & Co., Calcutta and Simla, 1918.

Besprechungen

Appel, Otto, Prof. Dr. h. c. Dr. Pareys Taschenatlanten Nr. 1 Kartoffelkrankheiten. I. Teil Knollenkrankheiten, IV. Auflage, 1948. Verlag Paul Parey, Berlin.

Es ist sehr erfreulich, daß gerade in jetziger Zeit, in welcher der Kartoffelbau als Ernährungsgrundlage des deutschen Volkes so stark in den Vordergrund tritt, der Taschenatlas der Kartoffelkrankheiten neu erscheint. Der I. Teil „Knollenkrankheiten“ liegt vor. Aus technischen Gründen sind die Abbildungen vom Text getrennt, während in den früheren Auflagen der Text neben den Abbildungen gebracht wurde. Der Gebrauch würde erleichtert, wenn der Text jeweils unter Angabe der entsprechenden Seitenbezeichnung der dazugehörigen Tafel eine eigene Seite erhielte. Die Abbildungen sind gut, lassen jedoch erkennen, daß sie nicht nach Originalzeichnungen, sondern nach den früheren Reproduktionen hergestellt sind. Vielleicht läßt es sich bei den weiteren Taschenatlanten ermöglichen, daß nach den Reproduktionen zunächst neue Originalzeichnungen hergestellt werden, die dann ihrerseits als Vorlagen für die Reproduktion dienen. Gewisse Feinheiten gehen bei der jetzt gewählten Handhabung doch verloren. Damit soll der Wert der jetzigen, unter so schwierigen Verhältnissen geschaffenen Auflage in keiner Weise herabgesetzt werden. Wir begrüßen die Neuauflage also in jeder Weise; sie hilft einem dringenden Bedürfnis ab.

Erwähnt sei noch, daß ein neuer Abschnitt über die Hauptgesichtspunkte für die Lagerung von Kartoffelknollen beigelegt ist.

Gassner.

Troll, Wilhelm. Allgemeine Botanik, ein Lehrbuch auf vergleichend-biologischer Grundlage. Ferdinand Enke-Verlag, 749 S. 597 Abb., 60.— DM., Stuttgart 1948.

Zu den bekannten Lehrbüchern der Botanik gesellt sich jetzt das Buch von Troll, Allgemeine Botanik, ein Lehrbuch auf vergleichend-biologischer Grundlage. Das Buch gliedert sich in 5 Hauptteile: Grundlagen, Morphologie, Anatomie, Physiologie und Fortpflanzung. Im Kapitel Fortpflanzung ist die Vererbung ganz fortgefallen, weil die Vererbungslehre als eine selbständige, der Botanik und Zoologie koordinierte Teildisziplin der Biologie aufgefaßt wird, und ausreichende Spezialdarstellungen zur Genüge vorhanden sind.

Das Lehrbuch trägt, wie schon erwähnt, den Untertitel: Ein Lehrbuch auf vergleichend-biologischer Grundlage. Dieser Untertitel verrät die Besonderheiten des Lehrbuches. Aus der bereits wiedergegebenen Haupteinteilung lassen sich Schlüsse auf die vom Verfasser gewählte Darstellung des Stoffes nicht ziehen. In Wirklichkeit handelt es sich um ein Lehrbuch, das ganz verschieden ist von allen anderen Lehrbüchern der Botanik. Es ist nicht nur ein eigenartiges, sondern auch ein eigenwilliges Buch. Äußerlich wird ja die sonst übliche und didaktisch begründete Einteilung in Morphologie, Anatomie und Physiologie beibehalten, jedoch werden die Begriffe hier viel weiter und undeutlicher gefaßt und immer wieder Brücken zwischen den vorerwähnten Gebieten geschlagen. Morphologie und Anatomie enthalten weitgehend Physiologie, und umgekehrt werden in der Physiologie auch in großem Umfange anatomische und morphologische Merkmale besprochen. Wie eng die Stoffverflechtung zwischen den einzelnen Gebieten in der Form der ge-

wählten Darstellung geht, mag daraus hervorgehen, daß Osmose, osmotischer Wert, Plasmolyse, Quellung und Turgordruck sich im Abschnitt Cytologie behandelt finden.

Die für ein Lehrbuch ungewöhnliche Behandlung des Stoffes erklärt sich aus dem Bestreben, ein vertieftes Verständnis des Pflanzenlebens zu ermöglichen. Selbstverständlich liegen enge Beziehungen z. B. zwischen Cytologie und den vorwähnten physiologischen Erscheinungen und Vorgängen vor. Ob aber die gewählte Darstellung didaktischen Anforderungen und dem Bedürfnis des Durchschnittsstudenten gerecht wird, muß die Zukunft lehren. An sich ist es zu begrüßen, daß einmal statt der bisherigen, vielfach wirklich etwas stark getrennten Darstellung anatomischer und physiologischer Fragen die in jedem Organismus liegende Einheit stärker betont wird, wobei der Verfasser sogar noch insoweit darüber hinausgeht, als er manvifache Parallelen zur Welt der tierischen Organismen zieht. So bietet sich für denjenigen, der wirklich Verständnis für das Wesen der Pflanze und ihrer Funktionen sucht, außerordentlich viel, zumal die Darstellung überall dem Stand der neuesten Erkenntnisse entspricht.

Auch sonst unterscheidet sich das Buch in mehrfacher Hinsicht vorteilhaft von anderen Lehrbüchern dadurch, daß gerade die Zusammenhänge stärker herausgestellt werden. Es sei hier auf den Abschnitt Atmung besonders verwiesen. Hier werden nicht nur die Atmung und Gärung in ihrem Wesen dargestellt, die anaerobe Atmung und die Gärung behandelt und eine Theorie der Gärungsprozesse gegeben, vielmehr schließt sich an diese theoretischen Ausführungen ein ausgezeichnetes, umfangreiches Kapitel über die praktische Auswertung der Gärungsprozesse. In diesem Kapitel kommen Weinbereitung, Bierbereitung, Brennerei, Säuerung von Milch, Käsebereitung, Säuerung von Gemüse, Gärutterbereitung und Brotbereitung in hervorragender Weise zur Darstellung. Referent kennt wenig Bücher, in denen gerade die Beziehungen zwischen Theorie und Praxis in so vorbildlicher Weise behandelt sind wie hier. Auf jeden Fall bietet das Buch dem fortgeschrittenen Studierenden und auch dem Wissenschaftler außerordentlich viel und gehört deshalb in jede Bibliothek eines biologischen Institutes.

Inhalt, Umfang und Ausstattung des Buches rechtfertigen den hohen Preis. Die Abbildungen sind ausnahmslos, wenn auch meist nach vorhandenen Vorlagen, neu gezeichnet und technisch sowie didaktisch einwandfrei.

Ich sagte schon, daß das Buch ein eigenwilliges Buch ist, in dem neue Wege beschritten werden, und in dem der Verfasser seine eigene Persönlichkeit weitgehend zu Wort kommen läßt. Diese Eigenwilligkeit erstreckt sich vielfach auch auf die gewählten Bezeichnungen und Termini technici, denen man vielleicht nicht überall ganz zu folgen vermag. So erscheint der Ausdruck „Überpflanzen“ anstelle von Epiphyten doch etwas gewagt.

Das Buch stellt unzweifelhaft einen Fortschritt dar. Wenn wir allein daran denken, daß es für die Studierenden heute sehr schwer ist, sich aus Hand- und Lehrbüchern über den heutigen Stand der Pflanzenphysiologie ausreichend zu informieren — denn die alte Pfeffersche Pflanzenphysiologie ist längst überholt und auch die pflanzenphysiologischen Vorlesungen von Jost genügen nicht mehr modernen Ansprüchen —, so bietet das Buch von Troll ebenfalls einen gewissen Ersatz für ein Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, auch wenn die einzelnen pflanzenphysiologischen Probleme etwas ungleich behandelt sind.

Es ist schade, daß der Verfasser seine ursprüngliche Absicht, Literaturhinweise zu bringen, nicht durchgeführt hat, wofür wohl der Gedanke, den Umfang des Buches nicht zu stark zu vergrößern, ausschlaggebend war. Aber auch so wollen wir das Buch in unseren wissenschaftlichen Bibliotheken nicht missen.

Gassner.

Mehlisch, K. Die Anwendung der Schädlingsbekämpfungsmittel in der gärtnerischen Praxis. Friesdorfer Hefte, Heft 17. 2. Aufl., 1949, 115 S. Verlag A. Lutzeyer, Bad Oeynhausen, z. Z. Minden i. W. Leicht kart. DM 3,60.

Das Büchlein bietet mehr, als aus dem Titel hervorgeht. Neben den direkten Bekämpfungsmaßnahmen chemischer, mechanischer und biologischer Art, die nach dem neuesten Stande der Forschung knapp und doch ausreichend besprochen werden, finden auch vorbeugende und indirekte Bekämpfungsmethoden, Hygiene und Resistenzzüchtung, Berücksichtigung. Durch ein gewissenhaft zusammengestelltes Inhaltsverzeichnis wird die Auffindung geeigneter, anerkannter Bekämpfungsverfahren der wichtigsten Krankheiten erleichtert. Das Heft stellt eine erfreuliche Bereicherung der Pflanzenschutzliteratur dar. In erster Linie ist es für den Praktiker bestimmt. Es bedarf in diesen Kreisen wohl kaum noch einer besonderen Empfehlung, wie die schnell notwendig gewordene Neuauflage beweist. Darüber hinaus wird aber auch der Phytopathologe gern Einblick in das Büchlein nehmen, das auf engem Raum vieles bringt, was sonst nur verstreut in Spezialwerken oder in größerer Ausführlichkeit abgehandelt wird.

Hassebrauk (Braunschweig).

In weiteren Heften des Bandes XVI dieser Zeitschrift kommen voraussichtlich folgende Arbeiten zum Abdruck:

- Ballarin, Untersuchungen über *Helminthosporium papaveris*
Stapp, Die Spelzenbräune des Weizens
Gäumann, Naef-Roth und Ettlinger, Zur Gewinnung von Enniatinen aus dem Myzel verschiedener Fusarien
Diener, Über die Bedingungen der Wurzelknölichenbildung bei *Pisum sativum* L.
Stapp und Markus, Untersuchungen über Vorkommen und Nachweis serologisch differenter Y-Viren der Kartoffel
Blumer und Geering, Das Kirschbaumsterben im Baselland
Stapp, Weitere Untersuchungen über die Resistenz der deutschen Kartoffelsorten gegen *Bacterium phytophthora* Appel
Pavlik, Studies in the pH regulation by the fungous mycelium of *Fusarium scirpi* Lamb. et Fautr.
Fischer, Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Atmung pflanzlicher Gewebe
Gäumann und Jaag, Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken
Miescher, Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf *Solanum lycopersicum* L.

Im Dezember 1949 erscheint:

Krankheiten und Schädlinge der landwirtschaftlichen und gärtnerischen Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von Prof. Dr. H. BRAUN und Dr. E. RIEHM

6. Auflage neubearbeitet und herausgegeben von

Prof. Dr. H. BRAUN
Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

352 Seiten mit 243 Textabb., kart. 20,— DM, Halbl. geb. 22,— DM

Dieses Werk ist das begehrteste seines Fachgebietes. Für Studenten als Lehrbuch und für den Praktiker als Nachschlagewerk ist es für den landwirtschaftlichen und gärtnerischen Pflanzenschutz unentbehrlich. Die alles Wesentliche umfassende Darstellung ist in der neuen Bearbeitung auf Grund der letzten Erkenntnisse noch verbessert und erweitert worden, die Textabbildungen wurden ebenfalls durch neue Vorlagen auf den neuesten Stand gebracht.

VERLAG PAUL PAREY BERLIN UND HAMBURG

Verantwortliche Schriftleiter: Prof. Dr. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstr. 1; Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätstr. 2. Weitere Mitarbeiter dieses Heftes: Rudolf Flensburg, geb. 15. 7. 1910 in Speicher; Rudolf Bercks, geb. 23. 10. 1910 in Burgsteinfurt; Hans Breider, geb. 20. 5. 1908 in Effeln; Kurt Hassebrauk, geb. 17. 12. 1901 in Braunschweig.

Handbuch der Pflanzenzüchtung

In Verbindung mit zahlreichen Mitarbeitern herausgegeben von
Prof. Dr. Dr. h. c. TH. ROEMER, Halle/S. und Prof. Dr. W. RUDORF, Voldagsen
5 Bände mit vielen hundert Abbildungen

Ab April 1949 erscheinen Lieferung 27 bis Schluß (etwa 6 Lieferungen).

Die restlichen Lieferungen enthalten folgende Kapitel bzw. Abschnitte:

Band II: K. Isenbeck † und K. v. Rosenstiel, Die Züchtung des Weizens
Band V: H. Lamprecht, Gemüsekohlarten. — H. Heyn, Gemüseerbsen. —
A. H. Bremer, Salat. — G. Becker und P. Vogel, Rettich, Radies und
Sellerie. — L. A. Schlösser, Gurken und Melonen. — J. HackbARTH,
Tomaten.

Inzwischen erschien: 27. Lieferung, Band V, Seite 289—368, brosch. 7,50 DM

28. Lieferung, Band II, Seite 289—368, brosch. 7,50 DM

29. Lieferung, Band II, Seite 369—448, brosch. 7,50 DM

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von Paul SORAUER

Unter Mitarbeit zahlreicher Forscher herausgegeben von

Prof. Dr. h. c. Dr. O. APPEL

Geh. Reg.-Rat, Präsident i. R. der Biologischen
Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft
in Berlin-Dahlem

Prof. Dr. H. BLUNCK

Institut für Pflanzenkrankheiten
in Bonn

I. Band: **Die nichtparasitären und Viruskrankheiten**

1. Halbband, 6. Aufl. 1933. 592 S. m. 123 Textabb. (1570g) Halbl. geb. 46,— DM
2. Halbband, 6. Aufl. 1934. 553 S. m. 147 Textabb. (1470g) Halbl. geb. 44,— DM

II. Band: **Die pflanzlichen Parasiten 1. Teil.**

5. Aufl. 1928. 758 S. m. 125 Textabb. (2190 g) Halbl. geb. 48,60 DM

III. Band: **Die pflanzlichen Parasiten 2. Teil.**

5. Aufl. 1932. 948 S. m. 195 Textabb. (2570 g) Halbl. geb. 66,— DM

IV. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen 1. Teil.**

5. Aufl. In Vorbereitung, erscheint voraussichtlich Anfang 1950

V. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen 2. Teil.**

5. Aufl. In Vorbereitung, erscheint voraussichtlich 1951

VI. Band: **Pflanzenschutz, Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten**

1. Halbband. 1939. 647 S. m. 63 Textabb. (1620g) Halbl. geb. 46,— DM
2. Halbband. 1941. 740 S. m. 82 Textabb. (1600g) leicht kart. 52,— DM

Jeder Band ist einzeln käuflich.

Das Werk ist das für die Bodenkultur als Handbuch der Pflanzenhygiene grundlegende und in der ganzen Welt maßgebende wissenschaftliche Standardwerk der Pflanzenkrankheiten und des Pflanzenschutzes. Es ist zugleich für die gesamte Weltliteratur das einzige umfassende Handbuch seines Gebietes, das für Jeden, der sich auf wissenschaftlicher Grundlage mit Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz beschäftigt, unentbehrlich ist.

VERLAG PAUL PAREY BERLIN UND HAMBURG

*Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich*
Direktor: Prof. Dr. E. Gämper

Über die Bedingungen der Wurzelknöllchenbildung bei *Pisum sativum* L.

Von
Theodor Diener

Mit 15 Abbildungen

Inhaltsverzeichnis: Einleitung. — I. Teil. Versuche über die Einwirkung von Umweltfaktoren auf die Knöllchenbildung bei *Pisum*. I. Methodik. A. Arbeitsmethoden 1. Impfmaterial, 2. Anzucht der Versuchspflanzen, 3. Kulturflüssigkeit, 4. Versuchstechnik. B. Methodische Versuche. II. Orientierende Versuche über den Einfluß der Knospelien Nährionen auf die Knöllchenbildung. A. Versuche mit Wurzelteilung. Zusammenfassung. B. Versuche ohne Wurzelteilung. Zusammenfassung. III. Der Einfluß des Stickstoffs. IV. Der Einfluß der Phosphorsäure. V. Der Einfluß des Kalziums. VI. Der Einfluß von Stickstoff und Phosphorsäure. VII. Der Einfluß von Stickstoff und Kalzium. VIII. Der Einfluß von Licht und Stickstoff. — II. Teil. Art der Einwirkung von Umweltfaktoren auf die Knöllchenbildung. A. Problemstellung. B. Versuche. C. Diskussion. — III. Teil Deutung der Ergebnisse. Aktive Abwehr. B. Ernährungsproblem. C. Schlußfolgerungen. Vergleich mit der Mykorrhizabildung bei Kiefer und Fichte. Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Die Entstehung der durch *Rhizobium leguminosarum* Beijs hervorgerufenen Wurzelumore bei Leguminosen ist umweltbedingt. Die Erscheinung, daß die Knöllchenbildung durch im Nährsubstrat vorhandene Stickstoffverbindungen gehemmt wird, wurde bereits von Rautenberg und Kühn (1861) beobachtet, zu einer Zeit, als die Ätiologie der Wurzelumore noch unbekannt war. Andere, weniger auffallende Abhängigkeiten der Knöllchenbildung von Umweltfaktoren wurden später gefunden. Heute besteht darüber eine ausgedehnte Literatur (Zusammenfassungen: Fred, Baldwin und McCoy, 1932, sowie Wilson, 1940).

Die überwiegende Zahl der in diesen Arbeiten beschriebenen Versuche wurde mit Pflanzen im natürlichen Nährsubstrat, dem Erdboden, durchgeführt, dem je nach Versuchsfrage, die eine oder andere chemische Verbindung zugesetzt wurde. Es ist nicht verwunderlich, daß aus diesen Versuchen, in denen ein chemisch nicht vollständig bekanntes Substrat benutzt wurde und in denen in Anbetracht der komplizierten kolloidechemischen Beschaffenheit der jeweiligen Bodenart das Schicksal der zugesetzten Verbindungen ungewiß war, keine eindeutigen Ergebnisse zu ermitteln waren. Wenn auch die auffallendste Erscheinung, eben die Hemmung der Knöllchenbildung durch Stickstoffverbindungen, von den meisten Autoren übereinstimmend beobachtet wurde, so gehen ihre Meinungen doch schon über die quantitative Seite derselben Erscheinung weit auseinander. In der Beurteilung der übrigen, auf-

die Knölchenbildung einwirkenden Umweltfaktoren, stehen sich die Ergebnisse dieser Versuche auch qualitativ vielfach diametral gegenüber.

Eine Abklärung dieser Verhältnisse ist nur bei strengerer Versuchsbedingungen zu erwarten. Erstes Erfordernis ist ein chemisch bekanntes Nährsubstrat. Erfolgversprechende Versuche können demnach nur dann vorgenommen werden, wenn es gelingt, die Versuchspflanzen in synthetischen Nährlösungen aufzuziehen und wenn — günstige Umweltbedingungen vorausgesetzt — Knölchen in diesen Lösungen gebildet werden. Wirklich gelang es Gäumann, Jaag und Roth (1945) eine solche Versuchsmethode zu entwickeln. Diese Methode wurde (mit einigen Modifikationen) für die Mehrzahl der im folgenden beschriebenen Versuche angewandt.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand darin, den Einfluß, den einige Umweltfaktoren auf die Knölchenbildung bei *Pisum* ausüben, qualitativ und wenn möglich auch quantitativ abzuklären.

Im ersten Teil werden die zu diesem Zwecke durchgeführten Versuche dargestellt, wobei als Kriterium stets Knölchenzahl und -gewicht maßgebend sind. Es wird also eine Korrelation zwischen „Quantität“ des beeinflussenden Umweltfaktors einerseits und Knölchenzahl (bzw. -gewicht) anderseits gesucht. Die Zwischenglieder der Kausalreihe Umweltfaktor — → Knölchenbildung werden dabei nicht berücksichtigt.

Im zweiten Teil wird versucht, die erhaltenen Korrelationen kausal zu ermitteln, d. h. zu ergründen, auf welche Art und Weise der betreffende Umweltfaktor auf die Knölchenbildung einwirkt.

Im dritten Teil werden schließlich die Versuchsergebnisse mit den Theorien verglichen, die zur Erklärung des Einflusses von Umweltfaktoren auf die Knölchenbildung geschaffen worden sind. Dieser Erörterung folgt eine Gegenüberstellung der Bedingungen der Wurzelknölchenbildung mit denjenigen der Mykorrhiza bei Kiefer und Fichte.

Erster Teil

Versuche über die Einwirkung von Umweltfaktoren auf die Knölchenbildung bei *Pisum*

I. Methodik

A. Arbeitsmethoden

Die Untersuchung des Einflusses von bestimmten Umweltfaktoren auf die Knölchenbildung setzt voraus, daß alle übrigen auf den Parasiten oder den Wirt einwirkenden Faktoren nach Möglichkeit konstant gehalten werden. Dies gilt insbesondere für das verwendete Impfmaterial.

1. Impfmaterial

a) Isolierung und Züchtung der Bakterien

Die Isolierung der Bakterien geschah nach einer von Fred, Baldwin und McCoy (1932) beschriebenen Methode. Frische Knölchen von Erbsenwurzeln wurden äußerlich mit Sublimatlösung (2%, 5 Min.) sterilisiert.

Reinkulturen wurden mittelst Verdünnungsreihen gewonnen. Die Weiterzüchtung der Bakterien erfolgte in einer Hefeextrakt-Mannit-Lösung. (Mannit 10 g; K_2HPO_4 0,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2 g; $NaCl$ 0,1 g; $CaCO_3$ 3,0 g; Hefeextrakt 100 ccm; H_2O dest. 900 ccm). Der Hefeextrakt wurde folgendermaßen hergestellt: 100 g Bäckerhefe wurden in einem Liter Wasser aufgeschwemmt, 2 Std. lang im Thermostaten bei 25° C aufbewahrt und dann im Autoklaven (120° C, 50 Min.) sterilisiert. Die Lösung konnte sich während 3 Tagen im Eisschrank absetzen.

b) Impfung

Um den Bakterien den parasitischen Start zu erleichtern, erfolgte die Impfung der Versuchsgläser mittelst einer verdünnten Kultur der Bakterien in ihrem Nährsubstrat. Dazu wurden 5 ccm Hefeextrakt-Mannit-Kultur mit-samt den Bakterien in 45 ccm sterilem Wasser dispergiert; in jedes Glas wurde 1 ccm dieser Suspension gegeben, worauf die Knöllchen bei gunstigen Umweltbedingungen reichlich angingen. Einige Beachtung wurde der Frage gewidmet, ob das Alter der Kolonie auf die Vitalität der Bakterien von Einfluß sei. Diese Vermutung ist naheliegend, da die Bakterien einen Zyklus von Gestaltsänderungen durchmachen (Thornton und Gangulye, 1926) und da von manchen Autoren (Bewley und Hutchinson, 1920) behauptet wird, daß nur die kleinen, beweglichen Kokken für die Infektion verantwortlich seien. Um dies abzuklären, wurden Infektionsversuche mit eins-, zwei-, drei-, vier- und fünfwöchigen Kulturen durchgeführt. Es konnte bei den im übrigen unter gleichen Bedingungen wachsenden Pflanzen kein den mittleren Fehler überschreitender Unterschied in der Knöllchenzahl festgestellt werden. Auch die mikroskopische Beobachtung der zur Impfung verwendeten Kulturen zeigte, daß stets, wenn auch in wechselnden Verhältnissen, bewegliche Bakterienformen vorhanden waren. Trotzdem wurden alle Versuche mit Kolonien beimpft, die eine Woche alt waren.

Bei der Herstellung der Impflüssigkeit wurde stets darauf geachtet, daß möglichst viele der isolierten Bakterienstämme darin vertreten waren. Diese Maßnahme verfolgte den Zweck, die unterschiedliche parasitische Eignung der verschiedenen Bakterienstämme nach Möglichkeit auszugleichen.

2. Anzucht der Versuchspflanzen

Als Versuchspflanzen wurden Markerbsen der Sorte „Wunder von Amerika“, früh, niedrig, verwendet. Gäumann, Jaang und Roth (1945) hatten zu ihrem Modellversuch Markerbsen der Sorte „William Hurst“ benützt. Ein orientierender Versuch lehrte, daß die von „William Hurst“-Wurzelknöllchen isolierten Bakterienstämme die Wurzeln von Erbsen der Sorte „Wunder von Amerika“ ebenfalls infizieren. Überdies wurden später Bakterienstämme benutzt, die aus Knöllchen von „Wunder von Amerika“-Erbsen isoliert worden waren.

Die Erbsensamen wurden während 15 Minuten in eine 0,4 prozent. Lösung von Caporit getauft und die äußerlich desinfizierten Samen in sterilisierte Erde (Autoklav, 120° C, 20 Min.) gesetzt. Wenn die Pflanzen die Höhe von 8—9 cm erreicht hatten, wurden die Wurzeln sorgfältig von

der Erde befreit und unter fließendem Wasser gereinigt. Für jene Versuche, bei denen die Wurzelhälften unterschiedlich ernährt werden sollten, wurden die Exemplare mit langen Seitenwurzeln ausgesucht und ihre Hauptwurzeln möglichst weit oben abgeschnitten, um die spätere Teilung der Seitenwurzeln zu erleichtern. Die Erbsenwurzeln wurden jeweils nach Entfernung der Erde sorgsam auf eventuell vorhandene Knölchenanlagen geprüft. Die Anzuchtmethode erwies sich aber als zuverlässig. Nur in einem einzigen Falle hatten sich in einem Topf einige Knölchen gebildet, so daß jene ganze Anzucht verworfen werden mußte.

3. Kulturflüssigkeit

Die Grundlösung für sämtliche Ernährungsversuche war die Knopsche Nährösung, die sich bekanntlich für Erbsen sehr gut eignet:

<chem>Cd(NO3)2</chem>	5,0	g
<chem>MgSO4</chem>	1,25	g
<chem>KH2PO4</chem>	1,25	g
<chem>KNO3</chem>	1,25	g
<chem>FeCl3</chem>	Spur	
<chem>H2O</chem> dest.	5000	cem

Dieser Grundlösung wurde je Liter 1 cem der Hoagland'schen A-Z-Lösung beigefügt.

Für die Ernährungsversuche war es notwendig, einzelne Ionen der Knopschen Nährösung ins Minimum zu setzen. Handelte es sich dabei um ein Anion, so wurde das damit ebenfalls nur in minimalen Mengen vorhandene Kation desselben Salzes durch eine andere Verbindung des betreffenden Kations molekular ersetzt. Es wurden dazu meist Chloride verwendet. Mußte dagegen ein Kation ersetzt werden, so wurden meist die betreffenden Natriumsalze zum Ausgleich benutzt.

Die Knopsche Lösung wird durch das saure Kaliumphosphat auf einen pH-Wert um 5,5 gepuffert. Wenn aber die Konzentration der Salze geändert wird, so kann leicht ein anderer pH-Wert resultieren. Dies trifft natürlich vor allem dann ein, wenn, wie in den Phosphorsäureversuchen, die Konzentration des sauren Kaliumphosphats herabgesetzt wird. Die ständige Kontrolle der Wasserstoffionenkonzentration erwies sich deshalb als notwendig. Ihre Messung wurde elektrometrisch vorgenommen. Der pH-Wert der Nährösungen schwankte zwischen 5,2 und 5,8.

Ist es möglich, mit dieser Methode schlüssige Resultate zu erhalten? Ein fiktives Beispiel soll die Diskussionsgrundlage bilden. Angenommen, es sei ein Versuch geplant, den Einfluß von Mg^{++} -Ionen auf die Knölchenbildung abzuklären. Dazu wird die Menge des in der Knopschen Lösung vorhandenen Magnesiumsulfats vermindert, z.B. statt 0,25 g nur 0,002 g je Liter zugefügt. Die damit ebenfalls verminzte Menge von SO_4^{2-} -Ionen wird gemäß obiger Vorschrift durch eine äquimolare Menge Natriumsulfat ersetzt. Die durchschnittliche Knölchenzahl bei normaler Magnesiumgabe sei 40, bei verminderter Magnesiumgabe 20. Die Interpretation des Resultates ist zweideutig: a) Mg^{++} stimuliert die Knölchenbildung, b) Na^+ hemmt die

Knöllchenbildung. Eine Entscheidung kann nur durch einen dritten Versuch erzielt werden, bei dem die verminderten SO_4^{2-} -Ionen durch ein anderes Sulfat ersetzt werden, z. B. durch Calciumsulfat. Wenn nun die durchschnittliche Knöllchenzahl bei diesem dritten Versuch wieder nahe 20 ist, so bleiben wohl immer noch zwei Interpretationen — a) Mg^{2+} stimuliert die Knöllchenbildung, b) sowohl Na^+ als auch Ca^{2+} hemmen die Knöllchenbildung —, aber die Wahrscheinlichkeit der ersten Interpretation ist gegenüber der früheren Diskussion gestiegen. Wiederholt man den Versuch nacheinander so, daß die mangelnden SO_4^{2-} -Ionen jedesmal durch ein anderes Sulfat ersetzt werden, so nimmt — stets ±-gleiche Knöllchenzahl als Ergebnis vorausgesetzt — die Wahrscheinlichkeit der ersten Interpretation ständig zu. Aus dieser Betrachtung folgt, daß die oben beschriebene Methode nie exakte Resultate liefern kann, daß aber die Zuverlässigkeit der aus den erhaltenen Zahlen (in unserem Falle Knöllchenzahl) gezogenen Schlüsse mit der Anzahl der ausgeführten Versuche steigt. Nicht ein einzelner Versuch, sondern erst die Verknüpfung und wechselseitige Betrachtung mehrerer Versuche führt zu gesicherten Resultaten.

Die Zusammensetzung der einzelnen Nährlösungen wird bei den entsprechenden Versuchen angegeben.

4. Versuchstechnik

a) Versuche mit Wurzelteilung

Als Kulturgefäße wurden Bechergläser (zum Teil Murano, zum Teil gewöhnliche Wassergläser) von 400 cem Inhalt verwendet. Jedes Becherglas wurde mit schwarzem Papier umwickelt, um die Algenbildung zu hemmen; aus dem gleichen Grunde und um eine Feuchtkammer zu bilden, damit die in die Nährlösung herabhängenden Wurzeln nicht vertrocknen, wurden die Gläser mit einem Karton zugedeckt. Je zwei Bechergläser wurden nebeneinandergestellt und die Versuchspflanze wurde rittlings auf ihren Rand gesetzt, so daß die eine Hälfte der Seitenwurzeln in das eine Becherglas ragte, die andere Hälfte in das andere Becherglas. Fünf Becherpaare bildeten eine Versuchsgruppe. Diese wurde im Modellversuch auf eine genau waagerechte Glasplatte gestellt und stand mittelst umgebogener Glasrohrchen mit den Nachfüllgefäßen in kommunizierender Verbindung, so daß sich sämtliche Bechergläser selbstständig nachfüllten und stets dieselbe Flüssigkeitshöhe besaßen. In den späteren Versuchen wurde auf dieses Wasserleitungssystem verzichtet; jedes Becherglas wurde einzeln aufgefüllt. Dadurch wurde nicht nur die Versuchsanordnung vereinfacht, sondern es wurde möglich, das Niveau der Lösung in den Gläsern individuell einzustellen. Es zeigte sich nämlich schon in den ersten Tastversuchen, daß die völlig untergetauchten Wurzeln keine Wurzelhaare ausbildeten. Wurzelhaare entstanden nur an jenen Wurzelteilen, die wenigstens zeitweise mit der Luft in direkte Berührung kamen. Das Wachstum der untergetauchten Wurzeln wurde bald kümmerlich; sie verloren schon nach 2—3 Wochen ihre weiße Farbe und wurden gelblich bis bräunlich. Da die Knöllchenbakterien bekanntlich durch die Wurzelhaare eindringen (Thornton, 1930 b), ist es leicht verständlich, daß sich

die Knölchen vorzugsweise an oder über der Oberfläche der Nährösung bildeten, also dort, wo Wurzelhaare vorhanden waren. Dadurch, daß das Niveau der Nährösung in den Bechern zeitweise so stark gesenkt wurde, daß die oberen Wurzelteile in der Luft hingen, konnten diese ungünstigen Verhältnisse verbessert werden. Die Pflanzen wuchsen besser und blieben auch nach 8—9 Wochen gesund. Die Wurzeln bildeten reichlich Wurzelhaare, so daß die Infektionsmöglichkeiten entsprechend größer wurden. Diesem System haftet allerdings der Nachteil an, daß die Infektion der zeitweilig in der Luft hängenden Wurzeln in stärkerem Maße vom Zufall abhängig ist, als wenn die betreffenden Wurzeln stets untergetaucht bleiben. Die großen Schwankungen der Knölchenzahl bei den einzelnen Pflanzen desselben Versuches sind möglicherweise auf diesen Umstand zurückzuführen. Der Vorteil, daß die Pflanzen unter natürlicheren Bedingungen wachsen können und deshalb gesund bleiben, ist mit dem Nachteil verknüpft, daß größere Schwankungen der Knölchenzahl eintreten. Dies ist aber leicht dadurch zu korrigieren, daß die Anzahl Pflanzen je Versuch erhöht wird.

Da die Nährösung nicht abfließen konnte, wurde die verbrauchte Lösung jede Woche in sämtlichen Bechergläsern erneuert. Gleichzeitig wurden die Gläser jeweils neu mit Bakterien beimpft. Mit Hilfe dieser Methode können an den Leguminosenwurzeln unter kontrollierten äußeren Bedingungen reichlich Knölchen erzeugt werden; es lassen sich überdies die beiden Wurzelhälften ein und desselben Individuums unterschiedlich ernähren, so daß die Frage des gegenseitigen Ausgleiches der aufgenommenen Nährstoffe in den beiden Wurzelhälften und in den oberirdischen Teilen der Pflanze dem Experiment zugänglich wird.

b) Versuche ohne Wurzelteilung

Parallel zu den Versuchen mit Wurzelteilung wurden Versuche in 6 Liter fassenden glasierten Steinguttopfen ausgeführt. In jeden Topf mit Nährösung tauchten die Wurzeln von 50 Pflanzen, die auf einem durchlöcherten Holzbrett befestigt waren. Im Gegensatz zu den Wurzelteilungsversuchen, wo der Sproß der Pflanze jeweils von der einen Wurzelhälfte her das der anderen Wurzelhälfte im Minimum gegebene Nährion erhalten konnte, stand in diesen Versuchen die ganze Pflanze unter dem Einfluß der einzigen im Topf vorhandenen Nährösung.

In diesen Versuchen wurde jeweils das Trockengewicht von Wurzel und Sproß der Pflanzen bestimmt.

B. Methodische Versuche

Sowohl im Modellversuch (Gäumann, Jaag und Roth, 1945) als auch in den orientierenden Versuchen (siehe Tabelle 6—11) wurde beobachtet, daß bei jenen Pflanzen, deren beide Wurzelhälften in dieselbe Nährösung eingetaucht waren, die eine Hälfte trotzdem mehr Knölchen trug als die andere Hälfte. Der Unterschied war, wie aus Tabelle 7 ersichtlich ist, am ausgeprägtesten in der 2-p-Lösung. Diese Tatsache ließ vermuten, daß die Schwankungen auf die räumliche Orientierung der Versuche zurückzuführen seien. Um die Frage abzuklären, wurden die folgenden fünf Versuche ausgeführt.

Räumliche Anordnung der Versuche und Knöllchenbildung**Versuch 1**

Versuchsfrage: Wie stark schwankt die Knöllchenzahl zwischen den beiden gleich ernährten Wurzelhälften, wenn die Pflanzen mitsamt ihren Bechergläsern täglich gedreht werden, der Einfluß der räumlichen Anordnung des Versuches also ausgeschaltet wird?

Ausführung: 35 Pflanzen wurden so auf einem Brett angeordnet, daß sich die ganze Versuchsserie drehen ließ. Sowohl die linke, als auch die rechte Wurzelhälfte jeder Pflanze tauchte in Bechergläser mit 2-Ca-Lösung (Zusammensetzung siehe Seite 139). Nach erfolgter Impfung mit Knöllchenbakterien wurde das Brett täglich um 180° gedreht, so daß der Einfluß der Himmelsrichtung auf die Knöllchenbildung ausgeschaltet war.

Resultate: siehe Tabelle 1.

Tabelle 1

Drehversuch

	Linke Hälfte	Rechte Hälfte
Trockengewicht der Wurzeln in mg	1710,3	1847,3
Trockengewicht der Knöllchen in mg	121,8	135,2
Gesamtzahl der Knöllchen	1380	1589
Durchschnittliche Knöllchenzahl	39,4 ± 4,4	45,4 ± 5,2

Versuch 2

Versuchsfrage: Wie stark schwankt die Knöllchenzahl zwischen den beiden gleich ernährten Wurzelhälften, wenn die eine Wurzelhälfte gegen Norden, die andere gegen Süden gerichtet ist und der Versuch gegen Einstrahlung aus Westen abgeschirmt ist?

Ausführung: 40 Pflanzen wurden so aufgestellt, daß ihre linken Wurzelhälften gegen Süden, ihre rechten Wurzelhälften gegen Norden gerichtet waren. Beide Hälften wurden mit 2-Mg-Lösung (siehe Seite 140) versorgt. Der Versuch wurde in einer Kabine ausgeführt, die an der Westseite des Versuchshauses steht. Um den Einfluß der Nachmittagssonne auszuschalten, wurde die Westseite der Kabine mit dickem Packpapier abgeschirmt.

Resultate: siehe Tabelle 2.

Tabelle 2

	Linke Hälfte Sudseite	Rechte Hälfte Nordseite
Trockengewicht der Wurzeln in mg	7466,3	8262,7
Trockengewicht der Knöllchen in mg	536,8	594,4
Gesamtzahl der Knöllchen	1606	2384
Durchschnittliche Knöllchenzahl	40,1 ± 6,3	59,6 ± 8,5

Versuch 3

Versuchsfrage: Hat die von Westen her einstrahlende Nachmittagssonne einen Einfluß auf die Knöllchenbildung?

Ausführung: Dieselbe Anordnung wie in Versuch 2, aber sämtliche Pflanzen der Nachmittagssonne ausgesetzt.

Resultate: siehe Tabelle 3.

Tabelle 3

	Linke Hälfte Südseite	Rechte Hälfte Nordseite
Trockengewicht der Wurzeln	6312,7	5928,0
Trockengewicht der Knölchen in mg	484,3	321,4
Gesamtzahl der Knölchen	1744	1454
Durchschnittliche Knölchenzahl	43,6 ± 8,4	36,3 ± 5,0

Versuch 4

Versuchsfrage: Wie stark schwankt die Knölchenzahl zwischen den beiden gleich ernährten Wurzelhälfte, wenn die eine Wurzelhälfte gegen Westen, die andere gegen Osten gerichtet ist?

Ausführung: 40 Pflanzen wurden so angeordnet, daß ihre linken Wurzelhälfte gegen Osten ihre rechten Wurzelhälfte gegen Westen gerichtet waren. Beide Hälften wurden mit 2-K-Lösung (siehe Seite 139) versorgt.

Resultate: siehe Tabelle 4.

Tabelle 4

	Linke Hälfte Ostseite	Rechte Hälfte Westseite
Trockengewicht der Wurzeln in mg	8901,5	8752,8
Trockengewicht der Knölchen in mg	196,9	121,9
Gesamtzahl der Knölchen	2261	1879
Durchschnittliche Knölchenzahl	56,5 ± 6,1	46,9 ± 4,8

Versuch 5

Versuchsfrage: Sind Unterschiede in der Knölchenbildung festzustellen, je nachdem, ob der Versuch in der einen oder anderen Kabine des Versuchshauses durchgeführt wird?

Ausführung: Dieselbe Anordnung wie in Versuch 2 und 3, aber in einer östlich gelegenen Kabine des Versuchshauses. Die 30 Pflanzen wurden mit 2-p-Lösung (siehe Seite 138) versorgt.

Resultate: siehe Tabelle 5.

Tabelle 5

	Linke Hälfte Südseite	Rechte Hälfte Nordseite
Trockengewicht der Wurzeln in mg	4376,4	2814,5
Trockengewicht der Knölchen in mg	48,3	17,1
Gesamtzahl der Knölchen	298	93
Durchschnittliche Knölchenzahl	10,0 ± 5,7	3,1 ± 2,5

Diskussion

Der erste Versuch zeigt, in welchem Maße die Knölchenzahl an der linken und an der rechten Wurzelhälfte bei gleicher Ernährung schwanken kann, wenn der Einfluß der räumlichen Anordnung des Versuches ausgeschaltet wird. Die Schwankungen der Knölchenzahl in den Versuchen 2, 3 und 4 unterscheiden sich von denjenigen im Versuche 1 nicht wesentlich.

Lediglich im Versuche 5 zeigt sich ein größerer Unterschied zwischen der Knölchenzahl an der linken Wurzelhälfte und derjenigen an der rechten Wurzelhälfte. Da aber in diesem Versuche die Gesamtknölchenzahl klein, der mittlere Fehler groß ist, kann der aufgetretenen Schwankung keine Bedeutung beigemessen werden.

Die fünf Versuche zeigen demnach, daß die räumliche Orientierung der Pflanzen keine Bedeutung hat für die Knölchenbildung. Die Befürchtung, daß die Ergebnisse der zu besprechenden Versuche durch einen derartigen Einfluß verfälscht worden wären, hat sich als unbegründet erwiesen. Die Schwankungen in jenen Versuchen (siehe Tabellen 6—11) sind nur deshalb so groß, weil sich dort die Zahlen auf wenige Pflanzen beziehen. Sobald das Problem in größerer Wiederholung untersucht wird, gleichen sich die Unterschiede mehr und mehr aus.

II. Orientierende Versuche

Über den Einfluß der Knopischen Nährionen auf die Knölchenbildung

A. Versuche mit Wurzeltrennung

Um ein erstes Bild über die Einwirkung der in der Knopischen Lösung enthaltenen Nährionen auf die Knölchenbildung zu erhalten, wurden sechs Versuche durchgeführt. Der erste Versuch stellt lediglich eine Wiederholung des Modellversuches dar, während in den folgenden Versuchen dieselbe Methode für die übrigen Ionen der Knop-Lösung angewandt wurde.

1. Wiederholung des Modellversuches

Versuch 6

Versuchsfrage: Wird die Knölchenbildung durch einen hohen Stickstoffgehalt der Nährlösung gehemmt?

Ausführung: Folgende Nährlösungen wurden verwendet:

	2n	n 100	
Ca(NO ₃) ₂	5 g	Ca(NO ₃) ₂	0,05 g
KCl	1,25 g	KCl	0,52 g
MgSO ₄	1,25 g	MgSO ₄	1,25 g
KH ₂ PO ₄	1,25 g	KH ₂ PO ₄	1,64 g
NH ₄ NO ₃	1,37 g	CaCl ₂	3,32 g
FeCl ₃ 1%	2 ccm	FeCl ₃ 1%	2 ccm
Hoagland	5 ccm	Hoagland	5 ccm
Aq. dest.	5000 ccm	Aq. dest.	5000 ccm

Der Versuch wurde mit insgesamt 80 Bechergläsern ausgeführt. Bei 5 Paaren erhielten beide Bechergläser, also beide Wurzelhälften, die doppelte Stickstoffmenge der normalen Knop-Lösung (2n). Bei 5 Paaren erhielten beide Bechergläser, also beide Wurzelhälften, 1/100 der Stickstoffmenge der normalen Knop-Lösung (n 100). Bei 30 Paaren erhielt das eine Becherglas, also die eine Wurzelhälfte, 2-n-Lösung, das andere Becherglas, also die andere Wurzelhälfte, n/100-Lösung. Die Knölchen jeder Wurzelhälfte wurden ausgezählt, weggeschnitten, 4 Stunden bei 103°C getrocknet und gewogen.

Resultate: siehe Tabelle 6.

Tabelle 6
Wiederholung des Modellversuches

Versuchsreihe	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen		Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen	
	Linke Hälfte	Rechte Hälfte	Linke Hälfte mg	Rechte Hälfte mg
Beide Wurzelhälften mit 2-n-Lösung	0	0	0	0
Beide Wurzelhälften mit n 100-Lösung	2.6 ± 1.9	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.06
Linke Wurzelhälfte mit 2-n-, rechte mit n 100-Lösung	1.7 ± 0.5	47.8 ± 9.3	0.4 ± 0.2	34.5 ± 8.7

2. Einfluß der Phosphorsäure

Versuch 7

Versuchsfrage: Wie ändert sich die Knöllchenbildung bei unterschiedlichem Phosphorsäuregehalt der Nährlösung?

Ausführung: Die Versuchsanordnung war dieselbe wie im Versuch 6.

2p	Nährlösungen:		p/100
	Ca(NO ₃) ₂	MgSO ₄	
Ca(NO ₃) ₂	5 g	Ca(NO ₃) ₂	5 g
MgSO ₄	1,25 g	MgSO ₄	1,25 g
KH ₂ PO ₄	2,50 g	KH ₂ PO ₄	0,01 g
NH ₄ NO ₃	0,50 g	KNO ₃	1,25 g
KCl	0,23 g	KCl	0,67 g
FeCl ₃ 1%	2 ccm	FeCl ₃ 1%	2 ccm
Hoagland	5 ccm	Hoagland	5 ccm
Aq. dest.	5000 ccm	Aq. dest.	5000 ccm

Resultate: siehe Tabelle 7.

Tabelle 7
Phosphorsäureversuch

Versuchsreihe	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen		Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen	
	Linke Hälfte	Rechte Hälfte	Linke Hälfte mg	Rechte Hälfte mg
Beide Wurzelhälften mit 2-p-Lösung	0.6 ± 0.3	8.6 ± 3.2	0.3	7.3
Beide Wurzelhälften mit p 100-Lösung	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.8	0.2	0.7
Linke Wurzelhälfte mit 2-p-, rechte mit p 100-Lösung	63.8 ± 8.8	2.4 ± 0.9	44.7	1.6

3. Einfluß des Kalziums

Versuch 8

Versuchsfrage: Wie ändert sich die Knöllchenbildung bei unterschiedlichem Kalziumgehalt der Nährlösung?

Ausführung: Die Versuchsanordnung war dieselbe wie im Versuch 6.

	Nährlösungen:		Ca 100
	2 Ca		
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5 g	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0,05 g
MgSO_4	1,25 g	MgSO_4	1,25 g
KH_2PO_4	1,25 g	KH_2PO_4	1,25 g
KNO_3	1,25 g	KNO_3	1,25 g
CaCl_2	3,32 g	NH_4NO_3	2,29 g
$\text{FeCl}_3 \text{ } 1\%$	2 cm	$\text{FeCl}_3 \text{ } 1\%$	2 cm
Hoagland	5 cm	Hoagland	5 cm
Aq. dest.	5000 cm	Aq. dest.	5000 cm

Resultate: siehe Tabelle 8.

Tabelle 8

Kalziumversuch

Versuchsreihe	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen		Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen	
	Linke Hälfte	Rechte Hälfte	Linke Hälfte	Rechte Hälfte
Beide Wurzelhälften mit 2-Ca-Lösung	14,6 ± 7,4	3,8 ± 1,9	5,9	3,0
Beide Wurzelhälften mit Ca 100-Lösung	0	0	0	0
Linke Wurzelhälfte mit 2-Ca, rechte mit Ca 100-Lösung	14,2 ± 3,4	0,1 ± 0,03	4,3	0,05

4. Einfluß des Kaliums

Versuch 9

Versuchsfrage: Wie ändert sich die Knöllchenbildung bei unterschiedlichem Kaliumgehalt der Nährlösung?

Ausführung: Die Versuchsanordnung war dieselbe wie im Versuch 6.

	Nährlösungen:		K 100
	2 K		
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	4 g	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5 g
MgSO_4	1,25 g	MgSO_4	1,25 g
KH_2PO_4	1,25 g	KH_2PO_4	0,01 g
KNO_3	2,50 g	KNO_3	0,01 g
CaCl_2	0,67 g	$(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$	0,60 g
KCl	0,68 g	NaH_2PO_4	0,27 g
$\text{FeCl}_3 \text{ } 1\%$	2 cm	$\text{FeCl}_3 \text{ } 1\%$	2 cm
Hoagland	5 cm	Hoagland	5 cm
Aq. dest.	5000 cm	Aq. dest.	5000 cm

Resultate: siehe Tabelle 9.

Tabelle 9

Kaliumversuch

Versuchsreihe	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen		Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen	
	Linke Hälfte	Rechte Hälfte	Linke Hälfte	Rechte Hälfte
Beide Wurzelhälften mit 2-K-Lösung	11,4 ± 4,1	30,8 ± 9,7	1,8	12,8
Beide Wurzelhälften mit K 100-Lösung	0	0	0	0
Linke Wurzelhälfte mit 2-K, rechte mit K/100-Lösung	14,8 ± 2,9	2,2 ± 0,4	3,7	0,5

5. Einfluß des Magnesiums

Versuch 10

Versuchsfrage: Wie ändert sich die Knöllchenbildung bei unterschiedlichem Magnesiumgehalt der Nährlösung?

Ausführung: Die Versuchsanordnung war dieselbe wie im Versuch 6.

Nährlösungen:

	2 Mg	Mg 100	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5 g	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5 g
MgSO_4	1,25 g	MgSO_4	0,01 g
KH_2PO_4	1,25 g	KH_2PO_4	1,25 g
KNO_3	1,25 g	KNO_3	1,25 g
MgCl_2	0,97 g	Na_2SO_4	1,44 g
$\text{FeCl}_3 \cdot 1\%$	2 ccm	$\text{FeCl}_3 \cdot 1\%$	2 ccm
Hoagland	5 ccm	Hoagland	5 ccm
Aq. dest.	5000 ccm	Aq. dest.	5000 ccm

Resultate: siehe Tabelle 10.

Tabelle 10

Magnesiumversuch

Versuchsreihe	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen		Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen	
	Linke Hälfte	Rechte Hälfte	Linke Hälfte mg	Rechte Hälfte mg
Beide Wurzelhälften mit 2-Mg-Lösung	13,6 ± 6,8	41,4 ± 10,6	3,4	13,8
Beide Wurzelhälften mit Mg/100-Lösung	1,4 ± 0,5	2,8 ± 1,2	1,5	1,7
Linke Wurzelhälfte mit 2-Mg-, rechte mit Mg 100-Lösung	32,2 ± 7,9	12,3 ± 2,2	14,8	5,4

6. Einfluß des Sulfations

Versuch 11

Versuchsfrage: Wie ändert sich die Knöllchenbildung bei unterschiedlichem Sulfatgehalt der Nährlösung?

Ausführung: Die Versuchsanordnung war dieselbe wie im Versuch 6.

Nährlösungen:

	2 S	S 100	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5 g	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5 g
MgSO_4	1,25 g	MgSO_4	0,01 g
KH_2PO_4	1,25 g	KH_2PO_4	1,25 g
KNO_3	1,25 g	KNO_3	1,25 g
Na_2SO_4	1,44 g	MgCl_2	0,98 g
$\text{FeCl}_3 \cdot 1\%$	2 ccm	$\text{FeCl}_3 \cdot 1\%$	2 ccm
Hoagland	5 ccm	Hoagland	5 ccm
Aq. dest.	5000 ccm	Aq. dest.	5000 ccm

Resultate: siehe Tabelle 11.

Tabelle 11
Sulfatversuch

Versuchsreihe	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen		Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen	
	Linke Hälfte	Rechte Hälfte	Linke Hälfte mg	Rechte Hälfte mg
Beide Wurzelhälften mit 2-S-Lösung	11,8 ± 3,6	12,1 ± 4,0	3,9	4,7
Beide Wurzelhälften mit S 100-Lösung	7,4	2,2	6,8	1,0
Linke Wurzelhälfte mit 2-S; rechte mit S 100-Lösung	10,9	2,8	5,7 ± 1,8	12,4

7. Vorläufige Diskussion

Die Tabellen 6—11 zeigen, daß in keinem Falle so eindeutige Ergebnisse erzielt werden konnten, wie im Modellversuch (Gäumann, Jaag und Roth, 1945). Jedesmal bildeten sich an beiden unterschiedlich ernährten Wurzelhälften Knöllchen. Deutliche Unterschiede in der Knöllchenzahl wurden im Stickstoff-, im Phosphorsäure- und im Kalziumversuch beobachtet, während die entsprechenden Unterschiede im Kalium, Magnesium- und Sulfatversuch zu gering sind, um daraus Schlüsse ziehen zu können. Es scheint daraus zu folgen, daß Stickstoff, Phosphorsäure und Kalzium auf die Knöllchenbildung einwirken, während Kalium, Magnesium und das Sulfation keinen solchen Einfluß zu haben scheinen.

8. Kritik

a) Die Schlüsse, die aus den vorstehenden Versuchen gezogen werden, sind der auf Seite 132 erörterten Verhältnisse wegen vorläufig zweiseitig. So wurde z. B. im Modellversuch in der n/100-Lösung wohl der NO_3^- -Gehalt auf 1/100 der Knopf-Menge herabgesetzt, doch wurde gleichzeitig der Cl^- -Gehalt der Lösung von 0,59 g auf 2,15 g Cl^- -Ionen in 5 l Lösung erhöht. Anderseits wurde der gesamte Salzgehalt der Lösung von 10,12 g auf 6,78 g Salze in 5 l Lösung vermindert, so daß der prozentuale Gehalt an Cl^- -Ionen von 5,4 % auf 34,9 % stieg. Ob die erhöhte Knöllchenzahl in der n/100-Lösung auf die verminderte Konzentration an NO_3^- -Ionen oder auf eine Stimulation durch die in vermehrtem Maße vorhandenen Cl^- -Ionen zurückzuführen ist, wird sich erst aus später zu besprechenden Versuchen ergeben.

b) Beim Phosphorsäure- und Kalziumversuch kann eingewendet werden, daß die beobachtete Erhöhung der Knöllchenzahl in der 2-p-, bzw. 2-Ca-Lösung nicht einer Stimulation durch die vermehrte H_2PO_4^- , bzw. Ca^{++} -Gabe, sondern einer relativen Herabsetzung des NO_3^- -Gehaltes der entsprechenden Lösung gegenüber der p/100-, bzw. Ca/100-Lösung zuzuschreiben sei. So beträgt der prozentuale NO_3^- -Gehalt der Ca 100-Lösung 71,9 %, der 2-Ca-Lösung aber nur 37,7 %.

Wenn diese Annahme zutreffen würde, so müßte eine Beziehung zwischen dem Stickstoffgehalt einer Lösung, ausgedrückt in Prozenten des Gesamtsalzgehaltes der Lösung, und der in dieser Lösung gebildeten Anzahl Knöllchen zu finden sein.

In der Tabelle 12 sind die prozentualen Stickstoffgehalte der verwendeten Nährlösungen aufgeführt. Dabei wurde willkürlich angenommen, daß die Wirkung des NH_4^+ -Ions derjenigen des NO_3^- -Ions gleichwertig sei. Ein Mol NH_4NO_3 wurde also zwei Molen NO_3^- -Ionen gleichgesetzt. Ammoniumnitrat ist ein physiologisch saures Salz, d. h. die Pflanze nimmt daraus vorwiegend die Kationen NH_4^+ auf. Anderseits ist bekannt (Frey-Wyssling, 1945), daß sich das Plasmalemma der Wurzelhaar in saurem Milieu kationisch verhält, daß es also die Anionen NO_3^- bevorzugt. Der physiologische Wert der NH_4^+ -Ionen kann demnach je nach Reaktion des Milieus kleiner oder größer sein als derjenige der NO_3^- -Ionen. In Abb. 1 ist die Beziehung zwischen prozentualem Stickstoffgehalt der Nährlösung und Knöllchenzahl graphisch dargestellt (bisherige Versuche = Kreise).

Tabelle 12
Prozentualer Stickstoffgehalt der Nährlösungen

	Lösung											
	n 100	2 Ca	2 K	2 S	2 Mg	Mg 100	S 100	2 n	2 p	K 100	p 100	Ca 100
% NO_3^-	0,05	37,7	44,2	44,8	47,0	51,0	53,7	58,7	61,2	63,5	64,4	71,9

Die gezeichnete Kurve in Abb. 1 vereinigt 10 der 12 aus den besprochenen Versuchen erhaltenen Punkte. Die in diesen Versuchen beobachteten Unterschiede der Knöllchenzahl lassen sich demnach auf eine Veränderung des relativen Stickstoffgehaltes der entsprechenden Lösungen zurückführen.

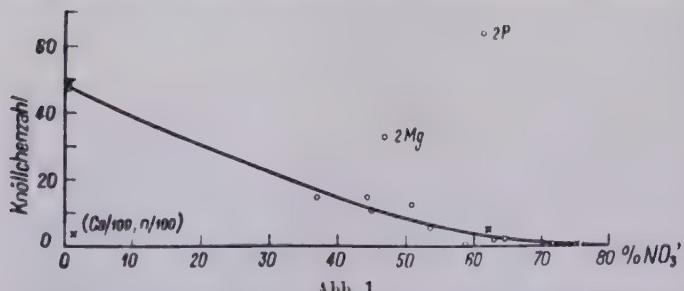


Abb. 1

Prozentualer Stickstoffgehalt der Nährlösungen und Knöllchenbildung
Achsen: Stickstoffgehalt, ausgedrückt in Prozenten des Gesamtsalzgehaltes der Lösung; Ordinate: durchschnittliche Knöllchenzahl je Pflanze

Stickstoffkonzentration 61,2 % betrug. Dies kann nur durch die erhöhte Phosphorsäurekonzentration (18,2 %) erklärt werden. Ebenso muß die in der 2-Mg-Lösung beobachtete Knöllchenzahl von 32,2 auf eine Stimulation durch die hohe Magnesiumkonzentration zurückgeführt werden.

Der deutliche Unterschied in der Knöllchenbildung, der sich im Kalziumversuch ergab, kann dagegen nach Abb. 1 erklärt werden, ohne eine Beeinflussung durch die Kalziumkonzentration annehmen zu müssen (siehe auch S. 146).

Lediglich für die beiden deutlich außerhalb der Kurve liegenden Punkte genügt diese Argumentation nicht. In der 2-p-Lösung entstanden durchschnittlich 63,8 Knöllchen je Pflanze, obwohl die

9. Zusammenfassung

- a) Die Hypothese, daß sich die in den orientierenden Versuchen beobachteten Unterschiede der Knöllchenzahl auf Unterschiede der relativen Stickstoffkonzentration in den entsprechenden Lösungen zurückführen lassen, hat sich bewährt.
- b) Es ist experimentell abzuklären, ob für die beobachtete Korrelation (Abb. 1) wirklich die Änderung der Stickstoffkonzentration oder die in den bisherigen Versuchen damit annähernd umgekehrt proportional verlaufende Chlorionenkonzentration verantwortlich sei.
- c) Erhöhte Phosphorsäurekonzentration stimuliert die Knöllchenbildung.
- d) Erhöhte Magnesiumkonzentration stimuliert die Knöllchenbildung.
- e) Die beiden letzten Resultate gelten absolut, da die Konzentrationsunterschiede der übrigen Nährionen zwischen der 2-p-, bzw. 2-Mg- und der p/100-, bzw. Mg 100-Lösung so geringfügig sind, daß daraus die Unterschiede in der Knöllchenzahl nicht erklärt werden können.
- f) Von der reichlich mit Stickstoff ernährten Wurzelhälfte findet entweder ernährungsphysiologisch zur stickstoffunterernährten Wurzelhälfte hinüber kein wesentlicher Stickstoffausgleich statt (die beiden Wurzelhälften agieren unabhängig voneinander, gleich selbständigen Individuen), oder dann wirkt der unterschiedliche Stickstoffgehalt der Lösungen nicht auf die Disposition des Wirtes, sondern auf die parasitische Eignung des Erregers (siehe S. 159).

B. Versuche ohne Wurzelteilung

1. Einfluß des Gesamtsalzgehaltes einer Lösung auf die Knöllchenbildung

Versuch 12

Versuchsfrage: Wie ändert sich die Knöllchenbildung bei unterschiedlichem Salzgehalt der Nährlösung, aber gleichbleibender Zusammensetzung?

Ausführung: Topfversuch ohne Wurzelteilung. Je 50 Pflanzen wurden in Töpfen mit folgenden Lösungen gezogen:

Lösung:	Aq. dest.	10 N	10 N	10 N
Salzgehalt in g l . . .	0	1	2	4

(Zusammensetzung der 10-N-Lösung siehe Seite 147.)

Die Pflanzen im destillierten Wasser blieben im Wachstum bald zurück. Die Pflanzen in der Lösung mit 4 g Salzen je Liter besaßen ein leicht sukkulentes Aussehen. Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 13.

Mit zunehmendem Salzgehalt der Nährlösung nahm das Trockengewicht von Sproß und Wurzeln der Pflanzen zu. Die Knöllchenbildung erfolgte optimal bei einem Salzgehalt von 2 g l. Bei größerem Salzgehalt der Lösung wurden etwas weniger, aber größere Knöllchen gebildet. Bei kleinerem Salzgehalt nahm die Knöllchenbildung stark ab. Im destillierten Wasser unterblieb sie beinahe vollständig.

Tabelle 13
Resultate von Versuch 12

Lösung	Durchschnittliche Knölchenzahl	Durchschnittliches Knölchengewicht mg	Durchschnittliches Trockengewicht mg	
			Sproß	Wurzel
0	0,3	0	156,4	42,0
1	31,0 ± 3,0	8,8	245,2	60,8
2	48,6 ± 5,6	14,1	248,8	59,6
4	41,8 ± 4,6	16,3	296,1	73,6

2. Kalium- und Sulfation

Im Kalium- und im Sulfatversuch (siehe Tabelle 9 und 11) wurden nur geringe Unterschiede der Knölchenzahl an den unterschiedlich ernährten Wurzelhälfte festgestellt. Diese Tatsache kann darauf beruhen, daß a) diese Ionen nicht auf die Knölchenbildung einwirken, oder b) daß die Kalium- und (oder) Sulfationen im Gegensatz zu den Nitraten von der reichlich ernährten zur unterernährten Wurzethälfte befördert werden, daß also ein ernährungsphysiologischer Ausgleich zwischen den Wurzelhälfte für Kalium- und (oder) Sulfationen stattfindet. Dieses Problem wurde in zwei Topfversuchen ohne Wurzelteilung untersucht.

Versuch 13

Versuchsfrage: Geht die Knölchenbildung auch dann unabhängig vom Kaliumgehalt der Nährlösung vor sich, wenn beide Wurzelhälfte in dieselbe Lösung tauchen?

Ausführung: 50 Pflanzen wurden in einem Topf mit 2-K-Lösung, 50 Pflanzen in einem Topf mit K/100-Lösung (siehe Seite 139) gezogen. Die Pflanzen wuchsen in beiden Töpfen gleichmäßig heran. Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 14.

Tabelle 14
Topfversuch. Einfluß des Kaliuns

Lösung	Durchschnittliche Zahl der Knölchen	Durchschnittliches Gewicht der Knölchen mg	Durchschnittliches Gewicht der Knölchen mg	
			Sproß	Wurzel
2 K	21,3 ± 4,3	4,8		
K 100	14,0 ± 2,9	3,1		

Versuch 14

Versuchsfrage: Geht die Knölchenbildung auch dann unabhängig vom Sulfatgehalt der Nährlösung vor sich, wenn beide Wurzelhälfte in dieselbe Lösung tauchen?

Ausführung: 50 Pflanzen wurden in einem Topf mit 2-S-Lösung, 50 Pflanzen in einem Topf mit S/100-Lösung (siehe Seite 140) gezogen. Ein Unterschied im Wachstum der Pflanzen in den beiden Töpfen konnte nicht bemerkt werden. Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 15.

Tabelle 15
Topfversuch. Einfluß des Sulfations

Lösung	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen	Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen mg
2 S. : S 100 :	284 ± 4,5 20,1 ± 3,9	5,1 4,4

Die Ergebnisse unterscheiden sich von denjenigen der entsprechenden Versuche mit Wurzelteilung nicht wesentlich. In den Topfversuchen wurde wohl eine höhere durchschnittliche Knöllchenzahl festgestellt, doch sind die erhaltenen Unterschiede zwischen den mit dem fraglichen Ion reichlich ernährten Wurzeln und den mit demselben Ion unterernährten Wurzeln sogar kleiner als in den Wurzelteilungsversuchen. Der dort beobachtete geringe Unterschied in der Knöllchenbildung kann demnach nicht auf einen ernährungsphysiologischen Ausgleich der betreffenden Ionen von der reichlich ernährten zur unterernährten Wurzelhälfte zurückgeführt werden. Ein Einfluß von Kaliums- und Sulfationen auf die Knöllchenbildung konnte also nicht festgestellt werden.

3. Kalzium

Kalzium scheint nach Abb. 1 die Knöllchenbildung nicht zu beeinflussen. Auf die Frage, ob dieser Einfluß nur deshalb nicht festgestellt werden konnte, weil von der mit Kalzium reichlich ernährten zur mit Kalzium unterernährten Wurzelhälfte hinüber ein Ausgleich stattfand, geben die folgenden Topfversuche Antwort.

Versuch 15

Versuchsfrage: Geht die Knöllchenbildung auch dann unabhängig vom Kalziumgehalt der Nährlösung vor sich, wenn beide Wurzelhälften in dieselbe Lösung tauchen? Übt Kalzium nur bei bestimmtem Stickstoffgehalt der Nährlösung einen Einfluß auf die Knöllchenbildung aus?

Ausführung: Je 50 Pflanzen wurden in Töpfen mit den folgenden Nährlösungen gezogen. Die Pflanzen wuchsen in allen 4 Töpfen gleich gut heran. Erst gegen Ende des Versuches zeigten sich in den Töpfen 3 und 4 2 Ca, n/100; Ca/100, n/100) Stickstoff-Mangelscheinungen. Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgebrochen.

	2 Ca, 2 n	Ca 100, 2 n	2 Ca, n 100	Ca 100, n/100
Ca(NO ₃) ₂	10 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g
MgSO ₄	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g
KH ₂ PO ₄	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g
KNO ₃	1,25 g	1,25 g	0,01 g	0,01 g
CaCl ₂	—	—	6,70 g	—
KCl	—	—	0,91 g	0,91 g
NH ₄ NO ₃	0,49 g	5,34 g	—	—
FeCl ₃ , 1%	2 ccm	2 ccm	2 ccm	2 ccm
Hoagland	5 ccm	5 ccm	5 ccm	5 ccm
Aq. dest.	5000 ccm	5000 ccm	5000 ccm	5000 ccm

Resultate: siehe Tabelle 16.

Tabelle 16
Topfversuch. Einfluß des Kalziums

Lösung	Durchschnittliche Zahl der Knöllchen	Durchschnittliches Gewicht der Knöllchen mg
2 Ca, 2 n	5.1 ± 1.6	1.3
Ca 100, 2 n	0.02 ± 0	0.0
2 Ca, n 100	48.3 ± 6.8	21.3
Ca 100, n 100	3.4 ± 1.5	2.1

Fügen sich auch diese, in Versuchen ohne Wurzelteilung erhaltenen Zahlen in die Kurve der Abb. 1 ein? Die entsprechenden Werte sind in Abb. 1 mit Kreuzchen eingetragen. Die Übereinstimmung mit der Kurve ist für die in den Lösungen 2 Ca, 2 n; Ca/100, 2 n und 2 Ca, n/100 erhaltenen Knöllchenzahlen gut. In diesen Lösungen können die Unterschiede der Knöllchenzahl wie in Versuch 8 auf den jeweiligen prozentualen Stickstoffgehalt der Lösung zurückgeführt werden, ohne daß eine Wirkung der Kalziumionen angenommen werden müßte. In der Ca/100, n/100-Lösung dagegen weicht die Knöllchenzahl von dem an Hand der Kurve erwarteten Wert stark ab. Obwohl der prozentuale Stickstoffgehalt der Lösung nur 1.5% beträgt, die Knöllchenbildung also begünstigt wäre, wurden nur durchschnittlich 3.4 Knöllchen je Pflanze gefunden.

Demnach muß ein gewisser minimaler Kalziumgehalt in einer Lösung vorhanden sein, damit die Knöllchenbildung vor sich gehen kann. Wird dieser Gehalt unterschritten, so wird Kalzium zum begrenzenden Faktor der Knöllchenbildung. Ist der minimale Gehalt erreicht oder überschritten, so gilt die in Abb. 1 dargestellte Beziehung, d. h. dann ist die Knöllchenbildung eine Funktion des Stickstoffgehaltes der Nährlösung.

4. Zusammenfassung

a) Die Knöllchenbildung ist abhängig von der Salzkonzentration einer Nährlösung. Sie verläuft optimal, wenn die Lösung etwa 2 g gelöste Salze je Liter enthält. In einer Lösung mit gleicher Zusammensetzung, aber größerem Salzgehalt werden weniger Knöllchen gebildet. Bei kleinerem Salzgehalt als 2 g/l nimmt die Knöllchenbildung stark ab. In destilliertem Wasser werden beinahe keine Knöllchen gebildet. Obwohl also die Lösung mit 2 g Salzen je Liter doppelt soviel Stickstoff enthält als dieselbe Lösung mit nur 1 g/l, werden doch in der stickstoffreichereren Lösung (2 g/l) mehr Knöllchen gebildet als in der stickstoffärmeren Lösung (1 g/l). Der absolute Stickstoffgehalt einer Lösung ist demnach für die Knöllchenbildung nicht entscheidend.

b) Kalium- und Sulfationen beeinflussen die Knöllchenbildung nicht oder nur so geringfügig, daß die Wirkung mit der vorliegenden Versuchsmethode nicht meßbar ist.

c) Ein ernährungsphysiologischer Ausgleich von der mit Kalzium reichlich ernährten zur mit Kalzium unterernährten Wurzelhälfte findet nicht statt (vorausgesetzt, daß die Kalziumionen auf die Krankheitsbereitschaft des

Wirtes und nicht auf die parasitische Eignung des Erregers einwirken, siehe zweiter Teil der Arbeit.

d) Kalzium wirkt als Grenzfaktor der Knöllchenbildung, wenn ein bestimmter minimaler Gehalt in der Lösung unterschritten wird.

III. Der Einfluß des Stickstoffs

Die orientierenden Versuche haben gelehrt, daß dem Stickstoffgehalt einer Lösung, ausgedrückt in Prozenten des gesamten Salzgehaltes der Lösung, eine für die Knöllchenbildung ausschlaggebende Bedeutung zukommt. Wenn deshalb die in Abb. 1 dargestellte Beziehung zwischen prozentualen Stickstoffgehalt und Knöllchenzahl bestätigt und mit mehr Punkten belegt werden soll, so müssen folgende Grundsätze beachtet werden:

1. Der Gesamtsalzgehalt soll für sämtliche Nährösungen gleich hoch sein.
2. Der prozentuale Gehalt der Lösungen an Phosphorsäure und Magnesium soll konstant gehalten werden.
3. Der prozentuale Gehalt der Lösungen an den übrigen, in der Knopflösung vorhandenen Ionen soll soweit wie möglich verändert werden.
4. Da ein ernährungsphysiologischer Ausgleich von der mit Stickstoff reichlich ernährten Wurzelhälfte zur mit Stickstoff unterernährten Wurzelhälfte nicht stattfindet, soll, damit alle Pflanzen unter denselben äußeren Bedingungen wachsen, jeweils die eine Wurzelhälfte mit der Testlösung, die andere Wurzelhälfte mit normaler Knopflösung versehen werden.

Versuch 16

Versuchsfrage: Prüfung der in Abb. 1 dargestellten Beziehung mit neuen Nährösungen.

Ausführung: Folgende 9 Nährösungen wurden verwendet; ihre prozentuale Zusammensetzung ist aus Abb. 2 ersichtlich.

	10 N	20 N	30 N	40 N	50 N	60 N	70 N	80 N	90 N
Ca(NO ₃) ₂	g	g	g	g	g	g	g	g	g
KNO ₃	1,10	2,19	3,30	4,40	5,50	5,71	5,11	4,53	3,89
KH ₂ PO ₄	0,28	0,56	0,84	1,12	1,40	1,43	1,28	1,12	0,97
MgSO ₄	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,19	1,05	0,91	0,81
CaCl ₂	2,13	1,54	1,43	1,43	1,13	1,14	1,04	0,92	0,81
KCl	3,14	2,42	1,64	0,89	0,14				
NaCl	1,76	0,78	0,44	0,23	0,02				
NH ₄ NO ₃	0,16	1,08	0,92	0,50	0,08		0,53	1,52	2,52
FeCl ₃ 1 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hoagland	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Aq. dest.	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000

Die linken Wurzelhälften von je 20 Pflanzen wurden mit derselben Nährlösung versehen. Die rechten Wurzelhälften derselben Pflanzen wurden

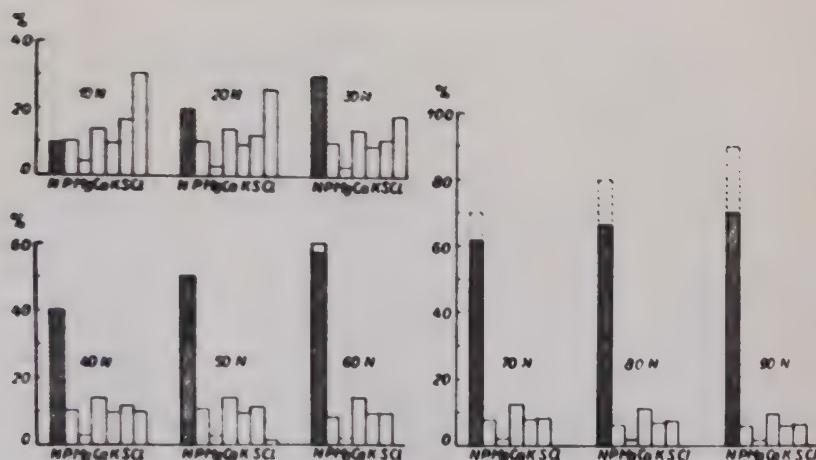


Abb. 2
Prozentuale Zusammensetzung der Nährlösungen von Versuch 16
Stickstoffgehalt: schraffierter Wert: 1 Mol NH_4NO_3 + 1 Mol NO_3^- + 1 Mol NH_4^+ ;
gestrichelter Wert: 1 Mol NH_4NO_3 + 2 Mol NO_3^-

mit Knop-Lösung ernährt. Sämtliche 180 Pflanzen wuchsen gleichmäßig heran. Der Versuch wurde nach 6 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 17 und Abb. 3.

Tabelle 17
Resultate von Versuch 16

Lösung	Durchschnittliche Knölchenzahl	Durchschnittliches Knölchen gewicht mg	Durchschnittliche Knölchenzahl in der Knop-Lösung
10 N	57,9 ± 9,1	15,6	22,3
20 N	30,5 ± 9,0	11,1	20,4
30 N	32,3 ± 6,7	12,0	24,8
40 N	22,0 ± 3,6	8,3	21,3
50 N	14,1 ± 2,8	6,8	24,5
60 N	5,5 ± 2,2	2,8	18,2
70 N	2,1 ± 1,1	0,8	21,9
80 N	0,3 ± 0,2	0	26,7
90 N	0	0	19,4

Mit zunehmendem Stickstoffgehalt der Nährlösungen nahm die Knölchenzahl, wie in den orientierenden Versuchen, ab. Die Übereinstimmung der Werte mit der eingezeichneten Kurve ist besser als in den früheren Versuchen. Lediglich die Knölchenzahl in der 20-N-Lösung blieb hinter dem zu erwartenden Wert zurück. Eine Ursache für dieses Verhalten konnte nicht gefunden werden. Die Kurve in Abb. 3 fällt aber mit derjenigen von Abb. 1 nicht zusammen, sondern ist annähernd parallel nach oben verschoben.

Versuch 16 wurde unter optimalen Lichtverhältnissen im Sommer durchgeführt, während die Versuche 6–11 teils im frühen Frühjahr, teils im Herbst stattfanden. Da die Lichtverhältnisse, wie im VIII. Kapitel erörtert wird, die Knöllchenbildung beeinflussen, mag die beobachtete Verschiebung darauf zurückzuführen sein.

Der Versuch bekräftigt die Annahme, daß der Stickstoffgehalt einer Nährlösung, ausgedrückt in Prozenten des gesamten Salzgehaltes der Lösung,

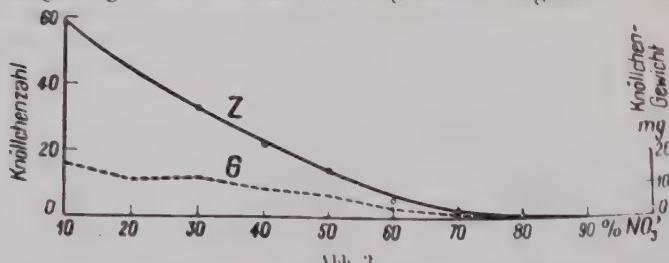


Abb. 3

Prozentualer Stickstoffgehalt der Nährlösung und Knöllchenbildung
Abszisse: Stickstoffgehalt der Nährlösungen in Prozenten des Gesamtgehaltes der Lösung; Ordinaten: Kurve Z: durchschnittliche Knöllchenzahl,
Kurve G: durchschnittliches Knöllchengewicht je Pflanze

ein vernünftiges Maß sei, um die Einwirkung des Stickstoffs auf die Knöllchenbildung zu erfassen. Der Einwand, daß die beobachtete Abhängigkeit der Knöllchenbildung vom Stickstoffgehalt ebenso mit dem in den Nährlösungen annähernd umgekehrt proportional verlaufenden Chlorionengehalt erklärt werden kann (siehe S. 141), gilt auch für Versuch 16. Aus Abb. 2 ist ersichtlich, daß der Cl⁻-Gehalt in der 10-N-Lösung am größten ist und daß er mit steigendem NO₃⁻-Gehalt zurückgeht. Um diese Zweideutigkeit zu beseitigen, wurde ein weiterer Versuch unternommen.

Versuch 17

Versuchsfrage: Ist die in der 10-N-Lösung von Versuch 16 festgestellte hohe Knöllchenzahl auf den hohen Chlorionengehalt der Nährlösung zurückzuführen?

Ausführung: In der 10-N-Lösung sind die fehlenden Ca- und K-Ionen durch CaCl₂ und KCl ersetzt worden. Für Versuch 17 wurde die 10-N-Lösung modifiziert; die Kalzium- und die Kaliumionen wurden durch Kalziumsulfat und Kaliumbikarbonat ersetzt. Die Lösung enthielt demnach keine Chlorionen.

10-N*-Lösung

Ca(NO ₃) ₂	1,18g	KHCO ₃	1,31g
KNO ₃	0,30g	FeCl ₃ 1%	2 ccm
KH ₂ PO ₄	1,54g	Hagglund	5 ccm
MgSO ₄	1,54g	Aq. dest.	5000 ccm
CaSO ₄	4,13g		

Die linken Wurzelhälfte von 20 Pflanzen wurden mit 10 N*-Lösung versiehen. Die rechten Wurzelhälfte derselben Pflanzen wurden mit Knopf-

Lösung versorgt. Beide Wurzelhälften und auch der Sproß sämtlicher Pflanzen wuchsen normal heran.

Resultat:

	10-N*-Lösung
Durchschnittliche Knölchenzahl	60,1 ± 8,7
Durchschnittliches Knölchengewicht	14,3 mg

Obwohl in der 10-N*-Lösung keine Cl-Ionen vorhanden waren, wurden fast gleichviel Knölchen gebildet wie in der 10-N-Lösung in Versuch 16. Demnach ist die hohe Knölchenzahl nicht auf den Cl-Gehalt, sondern wirklich auf den vermindernden Stickstoffgehalt der Lösung zurückzuführen.

IV. Der Einfluß der Phosphorsäure

Phosphorsäure scheint nach Versuch 7 die Knölchenbildung zu stimulieren. In Versuch 18 wurde der Einfluß der Phosphorsäure auf die Knölchenbildung näher bestimmt.

Dabei wurde der Stickstoffgehalt der Nährlösungen konstant gehalten.

Versuch 18

Versuchsfrage:

Wie wirkt die Phosphorsäure auf die Knölchenbildung ein, wenn der Stickstoffgehalt der Lösungen konstant gehalten wird?

Ausführung: Folgende 7 Nährlösungen wurden verwendet; ihre prozentuale Zusammensetzung ist aus Abb. 4 ersichtlich.

Abb. 4
Prozentuale Zusammensetzung der Nährösungen von Versuch 18

	0 P	5 P	10 P	15 P	20 P	25 P	30 P
Cat(NO ₃) ₂	g	g	g	g	g	g	g
KH ₂ PO ₄	3,95	3,95	3,95	3,95	3,95	3,95	3,95
KCl	0	0,62	1,40	2,10	2,81	3,50	4,20
MgSO ₄	2,20	1,97	1,45	1,06	0,66	0,30	0
CaCl ₂	1,97	1,97	1,95	1,43	1,33	1,20	0,99
NaCl	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,05	0,86
	0,63	0,24	—	0,21	—	—	—
	cem						
FeCl ₃ 1 %	2	2	2	2	2	2	2
Hageland	5	5	5	5	5	5	5
Aq. dest.	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000

Die linken Wurzelhälften von je 20 Pflanzen wurden mit derselben Nährlösung versorgt. Die rechten Wurzelhälften derselben Pflanzen wurden

mit Knopf-Lösung ernährt. Zwei Pflanzen starben während des Versuches ab, eine in der 15-P-, eine in der 30-P-Lösung. Die übrigen Pflanzen wuchsen gleichmäßig heran. Der Versuch wurde nach 6 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 18 und Abb. 5.

Tabelle 18
Resultate von Versuch 18

Nährlösung	Durchschnittliche Knöllchenzahl	Durchschnittliches Knöllchengewicht mg	Durchschnittliche Knöllchenzahl in der Knopf-Lösung
0 P	4.2 ± 0.8	2.3	16.4
5 P	33.4 ± 8.7	12.8	21.8
10 P	29.6 ± 6.5	10.4	20.9
15 P	33.1 ± 8.9	13.6	18.4
20 P	61.0 ± 12.1	18.4	22.8
25 P	65.4 ± 14.2	19.0	27.3
30 P	50.2 ± 10.8	15.1	32.4

Ein gewisser minimaler Phosphorsäuregehalt ist für die Knöllchenbildung notwendig. Dieser minimale Gehalt ist in der 5-P-Lösung vorhanden. In der 5-P-, 10-P- und 15-P-Lösung wurden annähernd gleichviel Knöllchen gebildet. Diese Knöllchenzahlen entsprechen ungefähr den in Lösungen mit einem Stickstoffgehalt von 30% festgestellten Werten. Erst in der 20-P-Lösung beginnt sich die Stimulation durch die Phosphorsäure auf die Knöllchenzahl auszuwirken. In der 30-P-Lösung fällt die Knöllchenzahl bereits wieder ab.

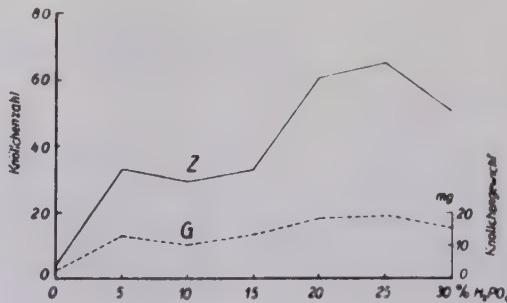


Abb. 5
Prozentualer Phosphorsäuregehalt der Nährlösung und Knöllchenbildung. Abszisse: Phosphorsäuregehalt der Nährlösung in Prozenten des Gesamtsalzgehaltes der Lösung; Ordinaten: Kurve Z: durchschnittliche Knöllchenzahl, Kurve G: durchschnittliches Knöllchengewicht je Pflanze

V. Der Einfluß des Kalziums

In Versuch 19 wurde der Einfluß des Kalziums auf die Knöllchenbildung untersucht.

Versuch 19

Versuchsfraage: Wie wirkt Kalzium auf die Knöllchenbildung ein, wenn der Stickstoffgehalt der Lösungen konstant gehalten wird?

Ausführung: Folgende 7 Nährlösungen wurden verwendet; ihre prozentuale Zusammensetzung ist aus Abb. 6 ersichtlich.

	0Ca	5Ca	10Ca	15Ca	20Ca	25Ca	30Ca
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0	2.08	3.95	3.95	3.95	3.95	3.95
KH_2PO_4	1.96	1.99	1.97	1.51	1.05	0.58	0.13
KCl	1.96	1.99	1.97	1.50	1.05	0.57	0.12
MgSO_4	1.97	1.99	1.97	1.51	1.04	0.59	0.12
CaCO_3	—	—	0.14	1.53	2.91	4.31	5.68
NaNO_3	4.11	1.95	—	—	—	—	—
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2	2	2	2	2	2	2
Hageland	5	5	5	5	5	5	5
Aq. dest.	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000

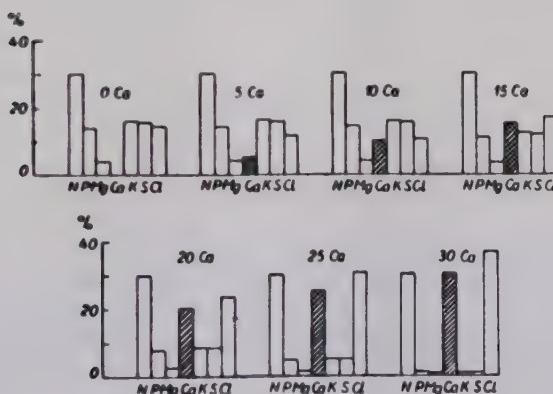


Abb. 6
Prozentuale Zusammensetzung der Nährösungen von Versuch 19

Lösung wirkte demnach toxisch auf die Pflanzen. Der Versuch wurde nach 6 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 19 und Abb. 7.

Tabelle 19

Nährösung	Durchschnittliche Knöllchenzah l	Durchschnittliches Knöllchengewicht mg	Durchschnittliche Knöllchenzahl in der Knop-Lösung
0Ca	0	0	24.3
5Ca	6.1 ± 1.1	2.8	28.4
10Ca	28.9 ± 6.4	9.8	25.1
15Ca	30.1 ± 6.8	10.2	30.6
20Ca	34.6 ± 7.0	12.8	18.2
25Ca	35.2 ± 6.8	11.6	27.9
30Ca	4.9 ± 0.8	0.9	6.3

Der minimale für die Knöllchenbildung notwendige Kalziumgehalt ist in der 5-Ca-Lösung unterschritten, in der 10-Ca-Lösung dagegen erreicht oder überschritten worden. Mit zunehmendem Kalziumgehalt nimmt die Knöllchenzahl schwach zu, doch ist daraus keine Stimulation durch den hohen Kalziumgehalt ableitbar, da die betreffenden Änderungen der Knöllchenzahl innerhalb des mittleren Fehlers liegen. In der toxischen 30-Ca-Lösung wurden nur wenige Knöllchen gebildet.

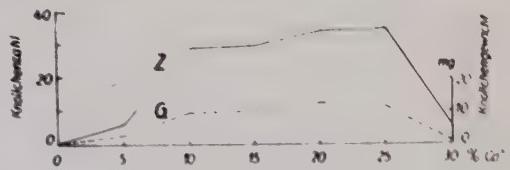


Abb. 7

Prozentualer Kalziumgehalt der Nährlösung und Knöllchenbildung. Abszisse: Kalziumgehalt der Nährlösung in Prozenten des Gesamtzalzgehaltes der Lösung; Ordinaten: Kurve Z: durchschnittliche Knöllchenzahl, Kurve G: durchschnittliches Knöllchengewicht je Pflanze

VI. Der Einfluß von Stickstoff und Phosphorsäure

Versuch 20

Versuchsfrage: Wie geht die Knöllchenbildung in Nährlösungen vor sich, in denen wechselseitig der Stickstoff- und Phosphorsäuregehalt variiert wird?

Ausführung: Topfversuch ohne Wurzelteilung. Folgende 9 Nährlösungen wurden verwendet; ihre prozentuale Zusammensetzung ist aus Abb. 8 (siehe folgende Seite) ersichtlich.

	10N, 1P	10N, 10P	10N, 20P	40N, 1P	40N, 10P	40N, 20P	75N, 1P	70N, 10P	70N, 20P
Ca(NO ₃) ₂	g	g	g	g	g	g	g	g	g
KNO ₃	0,28	0,28	0,28	1,12	1,12	1,05	1,28	1,23	1,09
KH ₂ PO ₄	0,14	1,43	2,80	0,14	1,43	2,64	0,14	1,38	2,38
MgSO ₄	2,13	2,13	2,13	1,43	1,43	1,34	1,13	0,99	0,89
CaCl ₂	3,14	3,14	3,14	0,89	0,89	0,83	—	—	—
KCl	1,56	0,85	0,11	0,93	0,23	—	0,82	—	—
NH ₄ NO ₃	—	—	—	—	—	—	1,52	1,47	1,30
NaCl	1,65	1,07	0,44	1,09	0,50	—	—	—	—
	eem	eem	eem	eem	eem	eem	eem	eem	eem
FeCl ₃ 1%	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Hoagland	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Aq. dest.	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000

Die Wurzeln von je 50 Pflanzen tauchten in dieselbe Nährlösung. Ein Unterschied im Wachstum der verschiedenen ernährten Pflanzen konnte nicht festgestellt werden. Die Pflanzen (sowohl Sproß wie Wurzeln) wuchsen in sämtlichen Töpfen gleichmäßig heran. Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgebrochen. Das Trockengewicht von Sproß und Wurzeln wurde bestimmt.

Resultate: siehe Tabelle 20 und Abb. 9.

Tabelle 20. Resultate von Versuch 20

Lösung	Durchschnittliche Knöllchenzahl	Durchschnittliches Knöllchengewicht mg	Durchschnittliches Trockengewicht mg	
			Sproß	Wurzel
10 N, 1 P.	102.4 ± 9.7	17.0	427.9	84.3
10 N, 10 P.	68.1 ± 7.3	10.2	442.0	84.2
10 N, 20 P.	110.2 ± 11.6	18.9	471.7	103.4
40 N, 1 P.	19.3 ± 2.1	1.2	453.7	92.8
40 N, 10 P.	36.0 ± 2.5	2.7	509.8	112.0
40 N, 20 P.	74.1 ± 5.4	4.5	520.1	168.4
70 N, 1 P.	0	0	411.4	88.5
70 N, 10 P.	0	0	473.0	94.1
70 N, 20 P.	5.8 ± 1.7	0.5	590.5	129.4

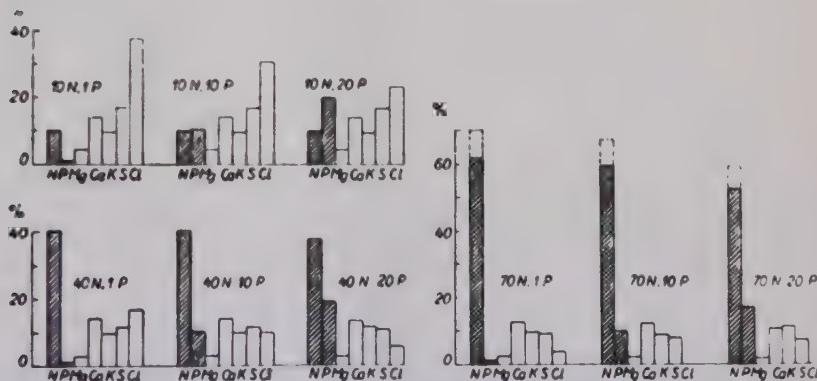


Abb. 8. Prozentuale Zusammensetzung der Nährlösungen von Versuch 20

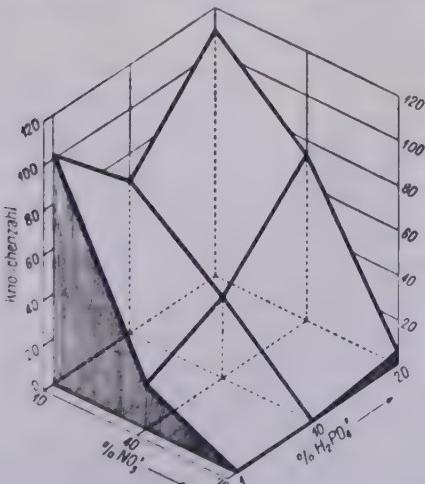


Abb. 9. Abhängigkeit der Knöllchenbildung vom Stickstoff- und Phosphorsäuregehalt d. Nährlösung. Raumliche Darstellung nach Björkman (1942)

Die Abb. 9 entspricht den früheren Ergebnissen: Hemmung der Knöllchenbildung durch Stickstoff, Stimulation durch Phosphorsäure. Eine Begünstigung der Knöllchenbildung durch Phosphorsäure fand aber nur in jenen Lösungen statt, die neben dem hohen Phosphorsäuregehalt gleichzeitig einen hohen Stickstoffgehalt aufwiesen. Bei geringem Stickstoffgehalt der Nährlösung (10 N) fand mit zunehmendem Phosphorsäuregehalt zunächst eine Verminderung der Knöllchenbildung statt, dann wieder eine Erhöhung bis etwas über den Wert bei 1 P hinaus. Die Knöllchen in den stickstoffarmen Lösungen (10 N) waren vorwiegend rot, während in den übrigen Lösungen mehrheitlich grüne Knöllchen angetroffen wurden.

VII. Der Einfluß von Stickstoff und Kalzium

Versuch 21

Versuchsfrage: Wie geht die Knölchenbildung in Nährösungen vor sich, in denen wechselseitig der Stickstoff- und Kalziumgehalt variiert wird?

Ausführung: Topfversuche ohne Wurzelteilung. Folgende 9 Nährösungen wurden verwendet; ihre prozentuale Zusammensetzung ist aus Abb. 10 ersichtlich.

	1N, 1Ca	1N, 10Ca	1N, 20Ca	30N, 1Ca	30N, 10Ca	30N, 20Ca	60N, 1Ca	60N, 10Ca	60N, 20Ca
Ca(NO ₃) ₂	0,07	0,07	0,07	0,41	2,79	2,79	0,41	4,96	7,28
KNO ₃	0,08	0,08	0,08	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	0,81
KH ₂ PO ₄	2,54	2,00	1,43	2,00	1,77	1,03	1,77	1,43	0,65
MgSO ₄	2,56	1,99	1,43	1,99	1,77	1,03	1,77	1,43	0,66
CaCl ₂	0,22	2,72	5,49	—	0,94	3,72	—	—	0,60
KCl	1,01	1,01	1,01	—	—	—	—	—	—
NH ₄ NO ₃	—	—	—	1,17	—	—	3,12	0,75	—
NaCl	3,52	2,13	0,49	3,00	1,30	—	1,50	—	—
	eem	eem	eem	eem	eem	eem	eem	eem	eem
FeCl ₃ , 1 %	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Hoagland	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Aq. dest	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000	5000

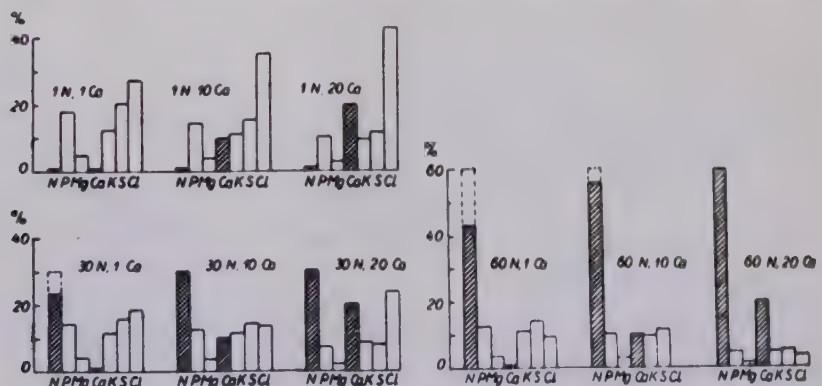


Abb. 10

Prozentuale Zusammensetzung der Nährösungen von Versuch 21

Die Wurzeln von je 50 Pflanzen tauchten in dieselbe Nährlösung. Auch in diesem Versuch konnte kein Unterschied im Wachstum der verschiedenen ernährten Pflanzen (weder am Sproß noch an den Wurzeln) festgestellt werden. Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 21 und Abb. 11.

In den Lösungen mit dem kleinsten Kalziumgehalt wurden unabhängig vom Stickstoffgehalt der Lösung nur wenig Knölchen gebildet. In den Lösungen mit dem größten Stickstoffgehalt bildeten sich unabhängig vom Kalziumgehalt der Lösungen nur wenig Knölchen. Im ersten Fall war der

Tabelle 21
Resultate von Versuch 21

Lösung	Durchschnittliche Knölchenzahl	Durchschnittliches Knölchengewicht mg	Durchschnittliches Trockengewicht mg	
			Sproß	Wurzel
1 N, 1 Ca . . .	12.2 ± 2.0	2.3	468.4	96.3
1 N, 10 Ca . . .	89.1 ± 9.4	7.8	416.8	84.1
1 N, 20 Ca . . .	91.9 ± 11.2	10.4	456.7	106.0
30 N, 1 Ca . . .	7.8 ± 1.6	1.7	396.5	80.2
30 N, 10 Ca . . .	47.5 ± 6.1	3.1	430.0	94.6
30 N, 20 Ca . . .	52.3 ± 5.0	5.3	586.3	128.5
60 N, 1 Ca . . .	3.4 ± 0.9	0.3	434.7	92.9
60 N, 10 Ca . . .	4.2 ± 1.0	0.3	420.4	82.0
60 N, 20 Ca . . .	4.0 ± 1.2	0.1	428.8	86.1

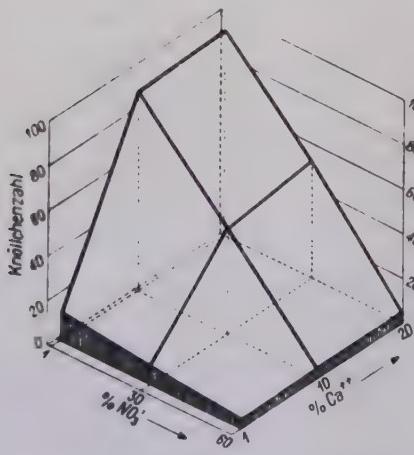


Abb. 11
Abhängigkeit der Knölchenbildung vom Stickstoff- und Kalziumgehalt der Nährlösung

suchspflanzen auf die Knölchenbildung aus? Ist der Lichteinfluß abhängig vom Stickstoffgehalt der Nährlösung?

Ausführung: Topfversuch ohne Wurzelteilung. Die Nährlösungen 10 N, 10 N und 70 N (Zusammensetzung siehe Seite 147) wurden verwendet. Eine Versuchsserie bestand aus 3 Töpfen mit je 50 Pflanzen. Der erste Topf enthielt 10-N-, der zweite Topf 40-N-, der dritte Topf 70-N-Lösung. Der Versuch bestand aus 3 derartigen Serien. Die erste Serie erhielt das volle Tageslicht. Die zweite Serie wurde unter einem Holzkäfig gestellt, der theoretisch die Hälfte der auffallenden Lichtintensität durchließ. Die dritte Serie wurde unter einem ähnlichen Holzkäfig gestellt, der aber theoretisch nur ein Viertel der auffallenden Intensität durchließ. Messungen mit geeichter Photozelle ergaben folgende Durchschnittswerte:

geringe Kalziumgehalt der Lösungen, im zweiten Fall der hohe Stickstoffgehalt der die Knölchenbildung begrenzende Faktor. In den 10-Ca-Lösungen war der zu normaler Knölchenbildung notwendige Kalziumgehalt vorhanden. Weitere Erhöhung des Kalziumgehaltes wirkte sich auf die Knölchenbildung nur noch unwesentlich aus. In den 10-Ca- und 20-Ca-Lösungen hing die Knölchenzahl fast ausschließlich vom Stickstoffgehalt der betreffenden Lösungen ab.

VIII. Der Einfluß von Licht und Stickstoff

Versuch 22

Versuchsfrage: Wie wirkt sich verminderte Belichtung der Versuchspflanzen auf die Knölchenbildung aus? Ist der Lichteinfluß abhängig

Serie: 1 2 3
 Lichtintensität . . . 100% 47,3% 20,8% der im Innern des Gewächshauses vorhandenen Lichtintensität.

Die Pflanzen der Serien 2 und 3 blieben im Wachstum gegenüber denjenigen der Serie 1 bald zurück. Die Pflanzen der dritten Serie bildeten nur wenige Seitenwurzeln. Vier Pflanzen der dritten Serie vergilbten und starben ab.

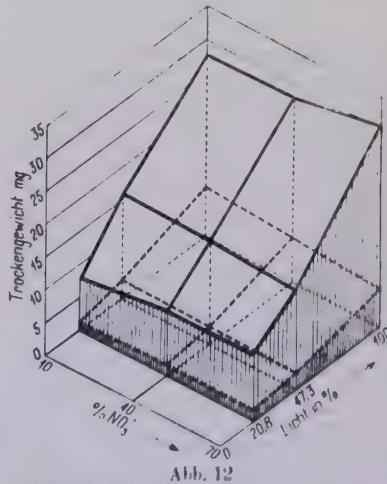
Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgebrochen.

Resultate: siehe Tabelle 22 und Abb. 12, 13, 14 und 15.

Tabelle 22
 Resultate von Versuch 22

Lösung und Licht	Durchschnittliche Knöllchen z a h l	Durchschnittliches Knöllchen g e w i c h t mg	Durchschnittliches Trockengewicht mg	
			Sproß	Wurzel
10 N; 100	75,5 ± 6,9	15,8	550,4	148,7
40 N; 100	34,2 ± 4,7	5,8	558,9	132,1
70 N; 100	0	0	612,5	120,4
10 N; 47,3	74,4 ± 6,5	7,5	314,7	52,0
40 N; 47,3	34,7 ± 3,1	3,6	310,6	52,8
70 N; 47,3	0	0	298,1	50,2
10 N; 20,8	7,4 ± 1,6	0,3	156,4	24,5
40 N; 20,8	6,4 ± 1,2	0,3	188,0	30,1
70 N; 20,8	0,1	0	192,6	32,5

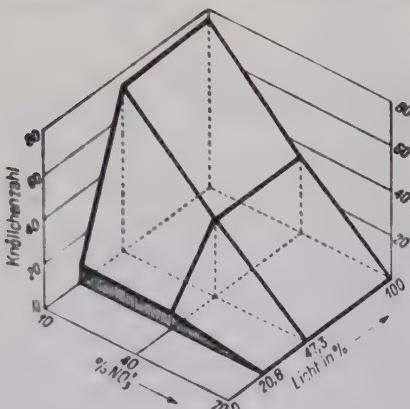
Sproß- und Wurzelgewicht der Pflanzen verminderten sich annähernd proportional mit der Lichtabnahme (Abb. 12). Die Knöllchenzahl (Abb. 13) änderte sich bei einer Verminderung der Lichtintensität von 100% auf 47,3% kaum, nahm dagegen sehr stark ab, wenn die Lichtintensität auf 20,8% herabgesetzt wurde. Die Abnahme des durchschnittlichen Knöllchengewichts (Abb. 14) verlief fast proportional zur Lichtabnahme. Die Verminderung der Lichtintensität scheint also zunächst die durchschnittliche Größe der Knöllchen herabzusetzen. Die Knöllchenzahl wird erst dann geringer, wenn die Lichtintensität unter 47,3% herabgesetzt wird. Da aber die verminderte Lichtintensität nicht nur die Knöllchenbildung, sondern auch das Wachstum der Wurzel beeinflußt, ist es zweckmäßig, als Kriterium für den Licht-



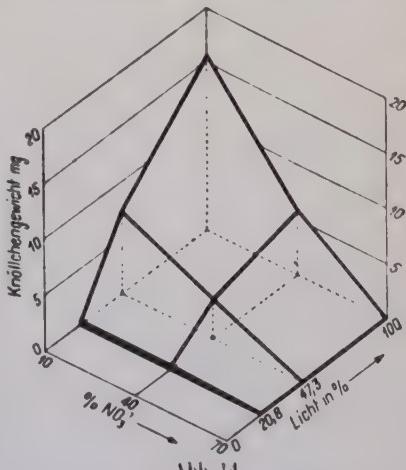
Abhängigkeit des Pflanzenwachstums von der Lichtintensität und vom Stickstoffgehalt der Nährlösung. Trockengewicht von Sproß und Wurzel. Ausgezogen: Trockengewicht des Sprosses, gestrichelt: Trockengewicht der Wurzeln von 50 Pflanzen

einfluß die Knöllchenzahl je Einheit Wurzeltrockengewicht zu betrachten. Diese relative Knöllchenzahl ist in Abb. 15 aufgetragen. Sie ist am größten bei 47,3% Licht. Sie wird sowohl bei Verminderung auf 20,8%, als auch bei Erhöhung auf 100% Licht kleiner.

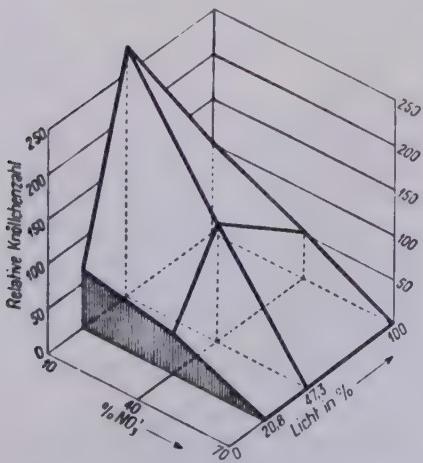
Dasselbe Bild ergibt sich für das relative



Abhängigkeit der Knöllchenbildung von der Lichtintensität und vom Stickstoffgehalt der Nährösung. Knöllchenzahl



Abhängigkeit der Knöllchenbildung von der Lichtintensität und vom Stickstoffgehalt der Nährösung. Knöllchengewicht



Abhängigkeit der Knöllchenbildung von der Lichtintensität und vom Stickstoffgehalt der Nährösung. Relative Knöllchenzahl = Knöllchenzahl, berechnet auf 10 mg Wurzeltrockengewicht

Knöllchengewicht. Noch deutlicher als die absoluten zeigen die relativen Werte, daß durch die Lichtverminderung die Zahl der Knöllchen zunächst nicht herabgesetzt, sondern (relativ) erhöht wird. Erst wenn die Lichtintensität einen gewissen Betrag (zwischen 47,3 und 20,8%) unterschreitet, wirkt sie sich auf die Knöllchenzahl aus. Dann aber geht Knöllchenzahl und -gewicht stark zurück.

Versuch 23

Versuchsfrage: Wie steht es mit der Knöllchenbildung, wenn die Lichtintensität unter 20,8% vermindert wird?

Ausführung: Eine Versuchsserie, bestehend aus 3 Töpfen mit 10-N-, 40-N- und 70-N-Lösung

und je 50 Pflanzen wurde unter einem Holzkäfig gestellt, der (nach Messungen mit der Photozelle) lediglich 11,3% Licht durchtreten ließ.

Resultat: Die Pflanzen wuchsen nur kümmerlich, wurden bald chlorotisch und die Sprosse dorrrten nach 4 Wochen ab. An den wohl nur schwach ausgebildeten, aber gesunden Wurzeln konnten keine Knöllchen gefunden werden.

Zweiter Teil

Art der Einwirkung von Umweltfaktoren auf die Knöllchenbildung

A. Problemstellung

Wie kommen die im ersten Teil dargestellten Abhängigkeiten der Knöllchenbildung von Umweltfaktoren zustande?

Am einfachsten ist die Einwirkung der Lichtintensität überblickbar. Da die Versuchsgläser jeweils zugedeckt worden waren, befanden sich die Wurzeln und die in die Nährösung gebrachten Bakterien stets im Dunkeln. Die unterschiedliche Lichtintensität konnte also nur indirekt, nämlich über den Sproß der Versuchspflanzen, auf die Knöllchenbildung eingewirkt haben. Der Einfluß des Lichtes auf die Knöllchenbildung ist demnach mit dessen Einfluß auf die Kohlenstoffassimilation gekoppelt. Die Tatsache, daß bei verminderter Lichtintensität die Knöllchenbildung zurückgeht, hängt notwendig mit der dabei ebenfalls verminderten Kohlehydratproduktion zusammen.

Ungleich schwieriger ist es, den Einfluß von Ionen der Nährösung auf die Knöllchenbildung zu analysieren. Da sich die Wurzeltumore der Leguminosen aus ektoparasitischen Infekten entwickeln, können die Nährionen sowohl einen Einfluß auf den Parasiten als auch auf den Wirt ausüben. Unter Zugrundelegung der Terminologie von Güemann (1946) lassen sich folgende Möglichkeiten denken:

I. Veränderung der parasitischen Eignung des Erregers

Entstehen in stickstoffreichen Nährösungen deshalb keine Knöllchen, weil die Bakterien in diesen Lösungen die nötige Vitalität für den parasitischen Angriff nicht besitzen? Wenn sich die Bakterien in stickstoffreichen Lösungen langsamer vermehren als in stickstoffarmen Lösungen, so würde dies zugunsten dieser Theorie sprechen. Besteht kein derartiger Unterschied, so heißt das nicht, daß die Aggressivität der Bakterien in beiden Lösungen dieselbe sei, denn Teilungsfähigkeit und Aggressivität müssen nicht notgedrungen proportional verlaufen. Die Theorie kann nur widerlegt werden, wenn es gelingt, in stickstoffreichen Lösungen latente Infekte nachzuweisen.

II. Veränderung der Krankheitsbereitschaft des Wirtes

Ist die Leguminosenpflanze nur bei Stickstoffunterernährung für den Befall durch *Rhizobium* disponiert? Das Ausmaß der ernährungsphysiologischen Verschiebbarkeit der Disposition wäre, verglichen mit anderen Pflanzenkrankheiten, außerordentlich groß, denn es gelingt, die Knöllchenbildung schon durch Veränderungen der Nährösung zu unterdrücken, die auf das Pflanzengewachstum keinen sichtbaren oder messbaren Einfluß haben (z. B. Versuch 20).

Seite 153). Wird den Bakterien dabei der Eintritt und die Fixierung im Wirtsorganismus verwehrt, oder reagiert das Wirtsgewebe nicht auf den von den eingedrungenen Bakterien ausgehenden Reiz? Je nachdem wird die Infektions- oder die Erkrankungsdisposition verschoben.

1. Verschiebung der Infektionsdisposition des Wirtes

a) Veränderung der Eindringungsresistenz

Da die Knöllchenbakterien durch die Wurzelhaare eindringen (Thornton, 1930b; Wilson, 1940), kann die Eindringungsresistenz nur in einem je nach Ernährung der Wurzelpflanze unterschiedlichen Bau der Wurzelhaarwand bestehen. An Hand der ausgeführten Färbungen (siehe S. 162) konnten mikroskopisch keine Unterschiede im Bau der Wurzelhaare beobachtet werden.

b) Veränderung der Ausbreitungsresistenz

Können die Infektionsschläuche nur bei gemäuer Zusammensetzung des Nährstoffgehaltes der Gewebe gegen den Zentralzylinder wachsen und dort die Bildung von Wurzelumoren auslösen?

c) Veränderung der Möglichkeit von Abwehrreaktionen

Die in den Wurzelknöllchen zu beobachtenden antiinfektionsellen plasmatischen Abwehrreaktionen (Gäumann, 1946; Thornton, 1930a; Brenchley und Thornton, 1925; Wunschk, 1925) vermögen die Infektion nicht zu verhindern. Sie unterbinden dagegen den Schritt von der Infektion zur Generalisation und spielen in dieser Beziehung bei schon bestehenden Tumoren im Kräftegleichgewicht zwischen Wirt und Parasit eine hervorragende Rolle. Ob entsprechende Abwehrreaktionen auch in den Wurzelhaaren vor sich gehen, ist unbekannt und schwer feststellbar.

2. Verschiebung der Erkrankungsdisposition des Wirtes

Verschiebt sich bei unterschiedlicher Ernährung die Reaktionslage des Wirtes (d. h. seine Geneigtheit, auf den Infekt pathologisch zu reagieren) darst, daß er auf den Infekt nicht mehr anspricht, dieser also latent bleibt? Findet die Gallreaktion nur unter bestimmten Umweltbedingungen statt?

B. Versuche

Die auffälligste Abhängigkeit der Knöllchenbildung von Umweltfaktoren — der Einfluß des Stickstoffgehaltes der Nährösung — stand im Vordergrund des Interesses.

Versuch 24

Versuchsfrage: Ist ein Unterschied der Teilungsgeschwindigkeit der Bakterien festzustellen, je nachdem, ob diese in stickstoffreichem oder -armem Milieu wachsen?

Ausführung: Aus einer Bakterienkultur (in Hefeextrakt-Mannit-Lösung, eine Woche alt) wurde je eine Platinöse Impfmaterial in Reagensgläser mit 10 ccm einer der folgenden Lösungen gebracht:

1 N: Lösung 1 N, 10 Ca (siehe S. 155)	+	1% Mannit	+	5% Hefeextrakt
10 N: Lösung 10 N (siehe S. 147)	+	1% Mannit	+	5% Hefeextrakt
70 N: Lösung 70 N (siehe S. 147)	+	1% Mannit	+	5% Hefeextrakt

Nach 6 Tagen wurde der Bakteriengehalt der Lösungen mittelst einer Thoma-Zählkammer bestimmt.

Resultate:

Bakterienstamm	Durchschnittliche Bakterienzahl je cm		
	1 N	10 N	70 N
a	70 800	59 200	64 400
b	89 300	75 000	57 700
c	46 900	49 100	31 800

Der Bakteriengehalt der stickstoffarmen Lösungen ist meist etwas höher als derjenige der stickstoffreichen Lösungen. Der Unterschied ist aber zu klein, um daraus einen Einfluß der Stickstoffverbindungen auf die Teilungsfähigkeit der Bakterien ableiten zu können. Die Bakterien teilten sich in unseren Lösungen praktisch unabhängig vom Stickstoffgehalt der Lösung.

Versuch 25

Versuchsfrage: Ist es möglich, Infektionen an Wurzeln, die in stickstoffreicher Lösung standen, zu beobachten?

Ausführung: In 20 cm hohen Reagensgläsern wurden Erbsen aufgezogen. Äußerliche Sterilisation der Samen: 3 Minuten in 80prozent. Alkohol, 3 Minuten in 0,2prozent. Sublimatlösung. Kulturmedium: K_2HPO_4 0,05%; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,02%; NaCl 0,01%; $Ca_3(PO_4)_2$ 0,2%; $FePO_4$ 0,1%; FeCl₃ 0,001%; Agar 1,2%. Methode beschrieben von Nutman (1916). Sobald die steril aufgewachsenen Pflanzen etwa 5 cm lange Wurzeln gebildet hatten, wurden sie unter sterilen Kautelen in neue Reagensgläser gebracht, die stickstoffarme (10 N) oder stickstoffreiche (70 N) Lösung enthielten. Die Pflanzen wurden so weit in die Gläser eingeführt, daß die Wurzeln in die Lösung tauchten, der Sproß sich aber über dem Wattebausch in der freien Luft befand. Die Gläser wurden gleichzeitig mit Bakterien beimpft. Täglich wurde je ein Glas mit 10 N- und eines mit 70 N-Lösung geöffnet und die mit Wurzelhaaren besetzten Wurzelstücke mikroskopisch untersucht.

Resultate: Dreißig Stunden nach der Infektion wurden sowohl an den Wurzelhaaren, die in 10 N-Lösung, als auch an denjenigen, die in 70 N-Lösung gewachsen waren, apikale Ansammlungen von Bakterien beobachtet. Am vierten Tage wurden in einzelnen Wurzelhaaren, die in stickstoffarmem Milieu gewachsen waren, bewegliche Kurzstäbchen (0,7 bis 2,2 μ Länge) gefunden. Während beinahe alle Wurzelhaare apikale Bakterienansammlungen besaßen, betrug die Zahl der infizierten zur Zahl der nicht infizierten Wurzelhaare nur ca. 1 : 200. Die in kleiner Zahl (1—4) vorhandenen Stäbchen bewegten sich lebhaft im Wurzelhaar umher. Sie gelangten dabei bis an die Basis des Haares, d.h. bis in die Epidermiszelle hinein, aus der das Haar gewachsen war, womit der Beweis erbracht war, daß sich die Stäbchen wirklich im Innern des Haares und nicht nur an dessen Außenseite befanden. Am sechsten und an den folgenden Tagen wurden Wurzelhaare gefunden, deren Inneres dicht mit lebhaft beweglichen Stäbchen erfüllt war. Offenbar hatten sich die einzelnen (oder das einzige) eingedrungenen Stäbchen geteilt.

In den Wurzelhaaren, die in der stickstoffreichen Lösung gewachsen waren, wurden keine Bakterien gefunden. Wie die Besiedlung der Erbsen-

wurzeln weiter vor sich gng. insbesondere wie sich die Infektionsschläuche bildeten, konnte mit dieser Methode nicht beobachtet werden.

Versuch 26

Versuchsfrage: Können an Wurzeln, die reichlich mit Stickstoff versorgt waren, latente Infekte festgestellt werden?

Ausführung: Mit Wurzelhaaren besetzte, sowie ältere Wurzelstücke aus den Versuchen 16 und 25 wurden in Benda-Lösung fixiert und dann in Paraffin überführt. Die 6—10 μ dicken Schnitte wurden nach zwei Methoden gefärbt:

a) Fuchsins-Jodgrünfärbung nach Schaede (1940). Die Schnitte werden nach Schaede 3—4 Stunden lang in ein Gemisch von einem Teil konzentrierter wässriger Fuchsinslösung und 9 Teilen 0,1 prozent. Jodgrünlösung getauft. Es zeigte sich aber, daß die Färbung besser wird, wenn die Einwirkung des Farbgemisches nur eine Stunde dauert. Die Differenzierung erfolgt in absolutem Alkohol, dem auf 100 ccm 0,1 g Jod und 1 ccm Eisessig zugefügt worden ist und dauert 1—2 Minuten. Diese Färbung eignet sich besonders zur Auffindung der Infektionsschläuche, welche sich intensiv blau färben. Dagegen heben sich die blaurot gefärbten Bakterien nicht eindeutig vom rosa gefärbten Plasma der Wirtszellen ab.

b) Thionin-Orange G-Färbung nach Stoughton (1930). Die Schnitte werden während einer Stunde in eine Lösung getauft, die 0,1 g Thionin und 5% Phenol enthält. Differenzierung in einer gesättigten alkoholischen Lösung von Orange G ($\frac{1}{4}$ —1 Minute). Die intensiv violett gefärbten Bakterien heben sich deutlich vom schwach blau angefärbten Plasma ab, dagegen sind die Infektionsschläuche nur schwer auffindbar.

Resultate: Es gelang, im untersuchten Material mehrere junge Infektionsschläuche aufzufinden, und zwar stets in Wurzeln, die in stickstoffarmer Lösung gewachsen waren. In den Wurzeln, die in stickstoffreichem Milieu aufgewachsen waren, wurden keine Infektionsschläuche aufgefunden.

C. Diskussion

Die Versuche 24, 25 und 26 erlauben bestenfalls eine Entscheidung darüber, ob der unterschiedliche Stickstoffgehalt der Lösungen auf die parasitische Eignung des Erregers oder auf die Krankheitsbereitschaft des Wirtes einwirkt. Eine weitergehende Analyse ist mit dieser Methode nicht möglich.

Da sich die Bakterien unabhängig vom Stickstoffgehalt der Lösung teilen (Versuch 24), konnte kein Anhaltspunkt für eine Vitalitätsabnahme der Bakterien in stickstoffreichem Milieu gefunden werden. Anderseits sprechen die Ergebnisse der Versuche 25 und 26 gegen das Vorhandensein von latenten Infekten. Die negativen Beobachtungen — keine latenten Infekte bei reichlicher Stickstoffernährung — besitzen allerdings keine endgültige Beweiskraft. Erst wenn ein viel umfangreicheres Material mit demselben Resultat verarbeitet worden wäre, könnte mit einiger Sicherheit behauptet werden, daß keine latenten Infekte bei reichlicher Stickstoffernährung bestehen.

Die im ersten Teil erörterte Frage, ob bei Versuchen mit Wurzelteilung ein ernährungsphysiologischer Ausgleich von der reichlich mit Stickstoff ernährten

zur mit Stickstoff unterernährten Wurzelhälfte stattfinde, muß offen gelassen werden. Eine Entscheidung wäre nur dann möglich, wenn erwiesen wäre, daß der Stickstoffgehalt der Nährösung auf die Krankheitsbereitschaft des Wirtes und nicht auf die Aggressivität des Parasiten einwirkt.

Dritter Teil

Deutung der Ergebnisse

Fügen sich die Ergebnisse unserer Versuche in eine der zur Erklärung des Einflusses von Umweltfaktoren auf die Knölchenbildung aufgestellten Theorien ein?

Diese Theorien lassen sich in zwei Gruppen ordnen. Die erste Gruppe umfaßt jene Theorien, die eine aktive Abwehr der Bakterien durch die Wirtspflanze bei reichlicher Stickstoffernährung postulieren. Die unterschiedliche Knölchenbildung wird auf ein mehr oder weniger erfolgreiches Ablauen dieser Abwehraktionen zurückgeführt. Sämtliche Theorien der zweiten Gruppe stimmen darin überein, daß das Ausbleiben der Knölchenbildung bei reichlicher Stickstoffernährung als ein (was den Wirt betrifft) passiver Vorgang betrachtet wird. Diese zweiten Theorien lassen sich letztlich alle auf ein Ernährungsproblem des Parasiten zurückführen. Entweder wird behauptet, daß die Bakterien in stickstofffreien Lösungen die für den parasitischen Start benötigte Vitalität nicht erreichen können (Mangel an Aggressivität), oder dann wird angenommen, daß die chemischen Verhältnisse im Wirtsgewebe bei reichlicher Stickstoffernährung den Bakterien unzuträglich seien (Ausbreitungsresistenz).

A. Aktive Abwehr

Hiltner (1900) vermutet, daß die Fähigkeit der Bakterien, die Wirtspflanze zu infizieren, von einer Schwächung der Pflanzen infolge Stickstoffunterernährung herrühre. Wurzelhaare, die mit genügend Stickstoff versorgt sind, hindern die Bakterien an der Infektion. Die Leguminosen sind nach Gäumann (1944, 1945) nur dann für den Befall durch die Knölchenbakterien disponiert, wenn sie partiell unterernährt sind. Sind sie harmonisch ernährt, so ist der Wirt dem Parasiten gewachsen.

Wie stimmen unsere Versuche mit diesen Theorien überein?

a) Eine Begünstigung der Knölchenbildung, die auf partielle Unterernährung zurückgeführt werden könnte, wurde nur bei Stickstoffmangel festgestellt. Unterernährung mit Phosphorsäure, Kalzium oder mangelnde Lichtintensität führte in unseren Versuchen zu einer Abnahme der Knölchenbildung. Höchstens die im Versuch 20 (Seite 153) ermittelte Zunahme der Knölchenzahl von der 10 N, 10 P- zur 10 N, 1 P-Lösung bei niedrigem Stickstoffgehalt könnte auf diese Weise ausgelegt werden.

b) Am Sproß derjenigen Pflanzen, die in stickstoffarmen Lösungen wuchsen, zeigten sich keine Symptome von Unterernährung. Sie wuchsen (z. B. im Versuch 20) ebensogut wie die reichlich mit Stickstoff versorgten Pflanzen, offenbar deshalb, weil sie ihren Stickstoffbedarf aus dem Samenvorrat

decken konnten. Da am Sproß keine Mängelscheinungen auftraten und da nicht anzunehmen ist, daß der Samenvorrat lediglich in den Sproß geleitet worden wäre, kann bei diesen Pflanzen auch an den Wurzeln lediglich eine nicht manifest gewordene Stickstoffunterernährung bestanden haben. Wäre aber eine solche vorhanden gewesen, so hätte sie bis zum Abschluß des Versuches (nach 5 Wochen) sicherlich manifest werden müssen. Dies war aber nicht der Fall; die Pflanzen konnten auch am Ende des Versuches von den mit Stickstoff reichlich ernährten Pflanzen nicht unterschieden werden. Daß das normale Wachstum der Pflanzen in stickstoffarmen Lösungen nicht etwa durch eine nachträglich in Gang gekommene Luftstickstoff-Fixierung in den gebildeten Wurzelknöllchen ermöglicht worden war, geht daraus hervor, daß Pflanzen in denselben Lösungen ohne Wurzelknöllchen ebenfalls normal wuchsen. Der Stickstoffmangel der Nährlösung kann demnach in unseren Versuchen nicht dadurch auf die Disposition der Wirtspflanzen eingewirkt haben, daß diese unterernährt, geschwächt und deshalb anfällig geworden wären. Der Mangel an Stickstoff in der Nährlösung hat (wenn es sich um eine aktive Abwehr handelte) die Reaktionsbereitschaft des Wirtsgewebes unmittelbar vermindert.

B. Ernährungsproblem

1. Stickstoff-Theorien

a) Die Beobachtung, daß die Knöllchenbildung in stickstoffreichem Substrat unterbleibt, führte zu Hypothesen, die den Stickstoffverbindungen selber, sei es im Substrat oder nach deren Aufnahme durch die Wirtspflanze im Zellsaft, einen hemmenden Einfluß auf die Bakterien zuschreiben. Diese Theorien gehen auf die Beobachtung von Laurent (1891) zurück, daß das Wachstum der Rhizobien in steriles Pflanzensaft gestoppt wird, wenn dem Saft 1% Nitrat zugefügt wird. Wilson (1910) verwirft diese Theorie mit der Begründung, daß die Nitratkonzentration, die benötigt wird, um das Wachstum der Bakterien zu unterdrücken, im Pflanzensaft selten vorhanden sei.

Die Stickstoffkonzentration der im Versuch 26 verwendeten Nährlösungen betrug: 1 N: $0,02\%$; 10 N: $0,2\%$; 70 N: $1,4\%$. Obwohl in der 70-N-Lösung die Stickstoffkonzentration mehr als 1% betrug, vermehrten sich die Bakterien in dieser Lösung ebenso stark wie in der stickstoffarmen Lösung 1 N.

b) Gjöbel (1926) vermutet, daß das im Substrat vorhandene Nitration schneller in die Pflanze diffundierte als die durch die Bakterien gebildete organische Stickstoffverbindung. Demzufolge sammle sich die letztere in den Knöllchen an und stoppe gemäß dem Massenwirkungsgesetz den Fixierungsprozeß ab. Diese Theorie kann lediglich die Hemmung der Luftstickstoff-Fixierung erklären. Die Frage, warum sich bei hoher Nitratzufuhr keine Knöllchen bilden, bleibt ungelöst.

2. Kohlehydrat-Theorien

Bei stark verminderter Lichtintensität unterbleibt die Knöllchenbildung (Versuch 23). Dies beweist, daß die Knöllchenbildung mit der Kohlenstoff-assimilation in Zusammenhang steht. Es wurde deshalb von vielen Autoren vermutet, daß der Kohlehydratvorrat der Wirtspflanze für die Knöllchenbildung

ausschlaggebend sei (Hopkins und Fred 1933; Leonard 1926; Ruffer 1932). Die Versuche mit Wurzelteilung zeigen, daß mit dieser Annahme die Abhängigkeiten der Knöllchenbildung nicht voll erfaßt sind. Wenn nämlich nur der Kohlehydratgehalt der Wurzeln für die Knöllchenbildung maßgebend wäre, so sollte diese (mindestens bis zu einem gewissen Grade) unabhängig von der Nährlösung vor sich gehen. Kohlehydrate werden nur in den assimilierenden Blättern der Pflanze gebildet; von dort wandern sie in die Wurzeln. Weshalb sie dabei je nach Nährlösung die eine Wurzelhalte der andern vorziehen sollten, ist nicht einzuschéen.

3. Kohlehydrat-Stickstoff-Theorien

a) Von Maizé (1898) stammt eine Kombination der erwähnten Hypothesen. Maizé nimmt an, daß die Infektion nur dann stattfinde, wenn die Wirtspflanze Kohlehydrate in das Substrat ausscheidet. Diese Ausscheidung finde nicht statt, wenn die Pflanze viel Nitrate zur Verfügung habe, da die Verbindung dieser Nitrate mit den durch die Photosynthese gebildeten Kohlehydraten den Kohlehydratvorrat der Pflanze zu stark vermindere. Die Beobachtung im Versuch 25, daß an den Wurzelhaaren fast stets Ansammlungen von Bakterien zu finden sind, deutet auf die Exkretion eines Stoffes durch die Wurzelhaare hin. Thornton (1929) postuliert einen Stoff, der in der Sproßspitze von Luzerneplänen gebildet wird, in die Wurzel wandert und durch die Wurzelhaare ausgeschieden wird. Ludwig und Allison (1935) schließen sich dieser Ansicht an und vermuten, daß die Wurzelhaare nicht nur Kohlehydrate, sondern auch Stickstoffverbindungen und einen spezifischen Wuchsstoff ausscheiden. Starkey (1931) fand an den Wurzeln von Leguminosen und in deren unmittelbarer Umgebung (der sog. Rhizosphäre) 50mal mehr Bakterien als im benachbarten Boden.

b) Wilson (Wilson 1935, 1940; Wilson und Fred 1939) baute die Kohlehydrat-Stickstoff-Theorie weiter aus. Danach spielt weder der absolute Kohlehydrat-, noch der absolute Stickstoffvorrat eine Rolle, sondern lediglich deren gegenseitiges Verhältnis. Je größer das Verhältnis Kohlehydrate : Stickstoff (KH:N) im Pflanzensaft ist, um so mehr Knöllchen werden nach Wilson gebildet. Ob die Vergrößerung des Verhältnisses durch Erhöhung der Kohlehydrate oder durch Senkung der Stickstoffkomponente bewerkstelligt wird, ist für das Ergebnis belanglos. Wilson ändert das Verhältnis KH:N u. a. durch Variation des Gehaltes CO_2 , O_2 und N_2 in der Atmosphäre, sowie durch Änderung der Lichtintensität und des Stickstoffgehaltes im Nahrsubstrat.

Wie stimmen diese Anschauungen mit unseren Versuchsergebnissen überein? Mit zunehmendem Stickstoffgehalt der Nährlösung wurden wohl stets weniger Knöllchen gebildet, doch zeigte es sich, daß verminderter Kohlehydratproduktion (bei verminderter Lichtintensität) zunächst die Knöllchengröße, nicht deren Zahl beeinträchtigt. Das Verhältnis KH:N ist lediglich eine Zahl, die die gegenläufige Wirkung von Kohlehydraten und Stickstoffverbindungen auf eine vereinfachende Formel bringt. Durch dieses Verhältnis wird die Art der Einwirkung von Kohlehydraten und Stickstoffverbindungen auf die Knöllchenbildung unserem Verständnis in keiner Weise nahegebracht.

und überdies besteht, wie unsere Versuche gezeigt haben, keine direkte Beziehung zwischen dem KH/N-Verhältnis und der Knölchenzahl.

C. Schlußfolgerungen

In unseren Ernährungsversuchen wurde als Kriterium für die Knölchenbildung stets die Anzahl (bzw. das Gewicht) der in den jeweiligen Nährösungen entstandenen Knölchen betrachtet. Der gebildete Wurzeltumor ist aber das Produkt von zwei verschiedenen, nacheinander sich abspielenden Vorgängen. Zunächst muß, als conditio sine qua non, die Infektion erfolgreich ablaufen. Erst dann, wenn sich der Parasit im Wirtsgewebe festgesetzt hat, ist die Möglichkeit zur Tumorbildung gegeben. Mit der Anwesenheit des Erregers im Werte ist aber lediglich die erste Bedingung der Tumorbildung erfüllt. Denn nun muß der Wirt auf den durch den Parasiten verursachten Reiz mit jenen Reaktionen antworten, die schließlich zur Bildung des Tumors führen. Wir haben also zwei in verschiedenen Ebenen vor sich gehende Abläufe vor uns: Einerseits die Anfälligkeit der Wirtspflanze (bzw. die parasitische Eignung des Erregers) und andererseits die Erkrankungs- bzw. Reaktionsdisposition des Wirtes. Beide Vorgänge werden durch Umweltfaktoren beeinflußt.

Bei reichlicher Stickstoffernährung wurden weder Bakterien in den Wurzelhaaren, noch latente Infekte im Rindenparenchym der Wurzeln beobachtet. Demnach wird den Bakterien bei hohem (relativem) Stickstoffgehalt der Nährösung der Eintritt ins Wirtsgewebe verwehrt. Entweder vermindern die Stickstoffverbindungen unmittelbar die Aggressivität der Bakterien oder dann wirken sich diese mittelbar auf den Infektionsverlauf aus, indem sie die Intensität der Abwehrreaktionen des Wirtes erhöhen. Der Infektionsablauf wird durch die (relative) Menge der im Substrat vorhandenen Stickstoffverbindungen gesteuert.

Nachdem der Parasit in das Wurzelparenchym des Wirtes eingedrungen ist, setzt der zweite Vorgang, die pathologische Reaktion des Wirtes ein. Ob diese Gallreaktion vor sich geht oder ob der Infekt latent bleibt, hängt wiederum von Umweltfaktoren ab. Die Beobachtung, daß bei herabgesetzter Lichtintensität, also bei verminderter Kohlehydratversorgung der Wurzeln, die Größe der Tumore abnimmt, zeigt, daß die Gallreaktion nur abrollen kann, wenn den sich bildenden, wachsenden Geweben des Tumors genügend Kohlehydrate zur Verfügung stehen. Die Knölchenzahl bleibt bei verminderter Lichtintensität wohl dieselbe (d. h. die Anfälligkeit der Wirtspflanze wird durch die Verminderung der Lichtintensität nicht tangiert), doch vermögen sich die Tumorgewebe nicht so üppig zu entwickeln wie bei ausreichender Kohlehydratversorgung. Bei noch schwächerer Lichtintensität vermag die Wirtspflanze auf den durch den Parasiten bewirkten Reiz nicht mehr zu antworten; trotz der Anwesenheit des Parasiten im Gewebe erfolgt keine Tumorbildung.

Wie aus Analysen des Aschengehaltes hervorgeht, weisen die Tumore einen höheren Phosphorsäuregehalt auf als die tumortragenden Wurzeln (Fred. Baldwin und McCoy 1932). Im Tumorgewebe findet also eine

Speicherung von Phosphorsäure statt. Die festgestellte Förderung der Knöllchenbildung durch erhöhte Phosphorsäuregabe kommt zustande, indem durch die reichliche Phosphorsäureversorgung die Gallreaktion gefordert wird. Junge, wachsende Gewebe besitzen allgemein einen höheren Phosphorsäuregehalt als Dauergewebe. Die Tätigkeit des Tumormeristems ist nur bei genugender Phosphorsäurezufuhr möglich. Erhält die durch den eingedrungenen Parasiten zur Teilung angeregte innerste Rindenparenchymsschicht nicht die zur Meristemanlage benötigte Phosphorsäuremenge, so bleibt der Infekt latent. Mit zunehmender Phosphorsäuregabe nimmt die Zahl der latent bleibenden Infekte ab, d. h. immer mehr Reizstellen vermögen sich die zur Meristembildung benötigte Phosphormenge zu beschaffen. Dies ist die Ursache dafür, daß sich der Phosphorsäuregehalt des Substrates nicht auf die Größe, wohl aber auf die Anzahl der sich bildenden Knöllchen auswirkt.

Kalzium und Magnesium sind im Gegensatz zur Phosphorsäure keine Aufbaustoffe; sie wirken lediglich als Antagonisten. Diese Ionen beeinflussen die Knöllchenbildung nur indirekt, indem durch unterschiedlichen Kalzium- bzw. Magnesiumgehalt der Lösung die Nährstoffaufnahme der Pflanze verschoben wird. Bezeichnend ist die Tatsache, daß zur Knöllchenbildung wohl ein geringer Kalziumgehalt der Lösung erforderlich ist, daß aber eine diesen minimalen Gehalt überschreitende Kalziumgabe die Knöllchenbildung nicht mehr wesentlich zu beeinflussen vermag (Abb. 7). Dieser Befund stimmt mit der Beobachtung überein, daß die antagonistische Wirkung eines Ions schon durch Zugabe von Spuren dieses Ions zu einer giftigen Einsalzlösung hervorgerufen werden kann. Höhere Dosen des betreffenden Ions vergrößern die entgittende Wirkung nicht mehr wesentlich.

Wir sehen also, daß jeder der drei Hauptfaktoren die Knöllchenbildung auf spezifische Art beeinflußt:

Stickstoff vermindert die Anfälligkeit der Wirtspflanze (bzw. die Aggressivität des Erregers).

Lichtmangel vermindert die Meristemtätigkeit.

Phosphorsäuremangel verhindert die Meristembildung.

Kalzium und Magnesium wirken lediglich als Antagonisten; sie beeinflussen die Stoffaufnahme der Pflanze.

Vergleich mit der Mykorrhizabildung bei Kiefer und Fichte

Die Bedingungen, unter denen bei Kiefer und Fichte Mykorrhiza auftritt, wurden von Björkman (1942) eingehend untersucht. Björkman fand, daß sich die Mykorrhiza dann optimal entwickelte, „wenn unter im übrigen gleichen Bedingungen (insbesondere genügendem Licht) ein starker (jedoch nicht völliger) Mangel entweder an löslichem Stickstoff oder Phosphorsäure im Substrat herrscht“. Er schließt daraus: „Die Bedeutung von Licht, Stickstoff und Phosphor für die Mykorrhizabildung bei Kiefern und Fichten dürfte hauptsächlich indirekt sein, und zwar infolge des Einflusses, den diese Faktoren auf den Gehalt an löslichen Kohlehydraten in den Wurzeln der Wirtspflanze ausüben, welches der Faktor zu sein scheint, der die Mykorrhizabildung direkt regelt“.

Björkman führt demnach die Wirkung, die Licht, Stickstoff und Phosphorsäure auf die Mykorrhizabildung ausüben, auf eine einzige Ursache zurück, nämlich den Gehalt der Wurzeln an löslichen Kohlehydraten. Aus unseren Versuchen geht hervor, daß die Wurzelknölchenbildung in der Hauptsache durch dieselben Faktoren (Licht, Stickstoff und Phosphorsäure) bestimmt wird. Es zeigt sich aber, daß es unmöglich ist, die Wirkung dieser Faktoren einheitlich auf den Kohlehydratgehalt der Wurzeln zurückzuführen. Wenn nämlich die Stickstoffverbindungen lediglich derart auf die Knölchenbildung einwirken würden, daß durch deren Aufnahme in die Wurzeln die Eiweiß-Synthese gefördert, der Kohlehydratvorrat also vermindert würde, so sollten sich für die Knölchenbildung sowohl mit zunehmender Stickstoffgabe, als auch mit abnehmender Lichtintensität dieselben Verhältnisse ergeben. Dies ist aber nicht der Fall. Mit zunehmendem Stickstoffgehalt der Lösung vermindert sich die Knölchenzahl gleichmäßig. Die Knölchengröße bleibt dabei annähernd konstant. Mit abnehmender Lichtintensität bleibt die Knölchenzahl zunächst gleich oder wird sogar (relativ) größer (Abb. 15). Die Knölchengröße hingegen nimmt proportional zur Lichtverminderung ab. Stickstoff und Licht wirken also völlig unterschiedlich auf die Knölchenbildung ein, und es ist deshalb im Falle der Leguminosensymbiose unmöglich, die Wirkung dieser beiden Faktoren auf eine einzige Ursache zurückzuführen.

Der Einfluß der Phosphorsäure auf die Mykorrhiza bei Kiefer und Fichte ist entgegengesetzt zu ihrem Einfluß auf die Knölchenbildung bei Leguminosen. Während zu optimaler Mykorrhizabildung ein Phosphorsäuremangel im Substrat notwendig ist, wird die Knölchenbildung durch steigende Phosphorsäremengen gefördert. Es ist deshalb auch nicht möglich, die Wirkung der Phosphorsäure auf die Knölchenbildung damit zu begründen, daß mit hohem Phosphorsäuregehalt die Eiweiß-Synthese gefördert, der Kohlehydratvorrat also gesenkt würde.

Während demnach Wurzelknölchenbildung bei Leguminosen und Mykorrhizabildung bei Kiefer und Fichte wohl durch dieselben Umweltfaktoren bestimmt werden, so ist doch die Einwirkung dieser Faktoren auf das Parasit-Wirtverhältnis bei den beiden Symbiosen grundsätzlich verschieden.

Zusammenfassung

1. Die Knölchenbildung bei *Pisum* wird in erster Linie durch folgende Umweltfaktoren bestimmt: a) die Intensität des einfallenden Lichtes und b) die Nahrungsverhältnisse im Substrat
2. Bei einer Verminderung der Lichtintensität um 50% werden ungefähr gleichviel Knölchen gebildet wie bei voller Lichtintensität. Die Knölchengröße nimmt proportional zur Lichtverminderung ab (Versuch 22). Bei stark verminderter Lichtintensität (unter 20%) unterbleibt die Knölchenbildung.

Durch die Verminderung der Lichtintensität wird die Assimilations-tätigkeit der Blätter herabgesetzt. Die Wurzeln erhalten eine kleinere Menge von Kohlehydraten. Dadurch wird die Gallreaktion der

Wirtspflanze, d. h. die Meristemtätigkeit der Knöllchen gehemmt; die Knöllchen bleiben klein oder werden (bei stark verminderter Lichtintensität) nicht ausgebildet.

3. Bei konstanter Lichtintensität wird die Knöllchenbildung in erster Linie durch den Gehalt der Nährlösung an Stickstoffverbindungen bestimmt. Hoher Stickstoffgehalt hemmt, niedriger Stickstoffgehalt fördert die Knöllchenbildung (Versuche 6, 16 und 17). Es gelang, eine Beziehung herzustellen zwischen dem Stickstoffgehalt einer Nährlösung, ausgedrückt in Prozenten des gesamten Salzgehaltes der Lösung, und der Knöllchenzahl (Abb. 1 und 3).

Der Gehalt der Nährlösung an Stickstoffverbindungen steuert die Infektion. Bei hohem Stickstoffgehalt vermögen die Bakterien nicht in das Wirtsgewebe einzudringen.

4. **Phosphorsäure** fördert die Knöllchenbildung (Versuche 18 und 20). Nur bei genügender Phosphorsäureversorgung der Wirtspflanze kann die Gallreaktion einsetzen. Bei zu geringer Phosphorsäureversorgung bleibt der Infekt latent.
5. Ein gewisser minimaler Kalzium- und Magnesiumgehalt der Nährlösung ist für die Knöllchenbildung notwendig (Versuche 19 und 21).

Die Kalzium- und Magnesiumionen verschieben die Nährstoffaufnahme der Pflanze und wirken indirekt auf die Knöllchenbildung ein.

6. **Kalium und Sulfation** üben keinen messbaren Einfluß auf die Knöllchenbildung aus (Versuche 9, 11, 13 und 14).

Literaturverzeichnis

- Bewley, W. F. and Hutchinson, H. B., 1920. On the changes through which the nodule organism (*Ps. radicicola*) passes under cultural conditions. Jour. Agr. Sci. (England) **10**, 144—162.
- Björkman, E., 1942. Über die Bedingungen der Mykorrhizabildung bei Kiefer und Fichte. Symbolae botanicae upsalenses **VI**, 2, 190p.
- Brenchley, W. E. and Thornton, H. G., 1925. The relation between the development, structure and functioning of the nodules on *Vicia Faba*, as influenced by the presence or absence of boron in the nutrient medium. Roy. Soc. (London) Proc. Ser. B, **98**, 373—398.
- Fred, E. B., Baldwin, I. L. and McCoy, E., 1932. Root nodule bacteria and leguminous plants. Univ. of Wisconsin, Stud. in Sci. **5**, 343p.
- Frey-Wyssling, A., 1945. Ernährung und Stoffwechsel der Pflanzen. Büchergilde Gutenberg, Zürich.
- Gäumann, E., 1944. Immunreaktionen und Immunität bei Pflanzen. Schw. Zeitschr. f. Path. und Bakt. **VII**, Fase. 4, 407—441.
- Gäumann, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. Verlag Birkhäuser, Basel.
- Gäumann, E., Jaag, O. und Roth, St., 1945. Über einen Immunisierungsversuch mit Wurzelknöllchenbakterien bei Leguminosen. Ber. Schw. Bot. Ges. **55**, 270—277.
- Gjøbel, G., 1926. The relation of the soil nitrogen to nodule development and fixation of nitrogen by certain legumes. N. J. Expt. Sta. Bul. **436**, 125p.
- Hiltner, L., 1900. Über die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen. Arb. k. Gesundh.-Amt Biol. Abt. **1**, 177—222.
- Hopkins, E. W. and Fred, E. B., 1933. Influence of various nitrogenous compounds and mannitol on nodule formation by clover. Plant Physiol. **8**, 141—155.

170 Diener: Über die Bedingungen der Wurzelknöllchenbildung

- Laurent, E. 1891. Recherches sur les nodosites radicale des légumineuses. Ann. Inst. Pasteur **5**, 105—139.
- Laurent, E. 1901. Observations sur le développement des nodosités radicales chez les légumineuses. Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris) **133**, 1241—1243.
- Leonard, L. T. 1926. A preliminary note on the relation of photosynthetic carbohydrate to nodule formation on soybeans. Jour. Amer. Soc. Agron. **18**, 1012—1016.
- Ludwig, C. A. and Allison, F. E., 1935. Some factors affecting nodule formation on seedlings of leguminous plants. Jour. Amer. Soc. Agron. **27**, 895—902.
- Maze, M. 1898. Les microbes des nodosités des légumineuses. Ann. Inst. Pasteur **12**, 128—155.
- Nutman, P. S. 1946. Variation within strains of clover nodule bacteria in the size of nodule produced and in the "effectivity" of the symbiosis. Jour. Bact. **51**, 4, 411.
- Poischenrieder, H., Sammet, K. und Fischer, R. 1942. Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Ernährung mit Kali und Phosphorsäure auf die Ausbildung der Wurzelknöllchen der Sojabohne und die Tätigkeit der Knöllchenbakterien. Centrbl. Bakt. usw. 2. Abt., **102**, 388—399.
- Rautenberg, F. und Kühn, G. 1864. XVIII Vegetationsversuche im Sommer 1863. Jour. Landw. **12**, 107—140. (zit. nach Fred, Baldwin und McCoy, 1932).
- Ruffer, E. 1932. Forschungen zum Kohlehydratumsatz bei knöllchentragenden und knöllchenfreien Sojabohnen. Zeitschr. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde **24A**, 129—167.
- Schaeede, R. 1940. Die Knöllchen der adventiven Wasserwurzeln von *Neptunia oleracea* und ihre Bakteriensymbiose. Planta **31**, 1—31.
- Starkey, R. L. 1931. Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. Soil Sci. **32**, 367—393, 395—404.
- Stoughton, A. 1930. Thionin and Orange G for the differential staining of bacteria and fungi in plant tissues. Ann. Appl. Biol. **17**, 162.
- Thornton, H. G. 1920. The role of the young lucerne plant in determining the infection of the root by the nodule-forming bacteria. Roy. Soc. (London) Proc. Ser. B, **104**, 481—492.
- Thornton, H. G. 1930a. The influence of the host plant in inducing parasitism in lucerne and clover nodules. Roy. Soc. (London) Proc. Ser. B, **106**, 110—122.
- Thornton, H. G. 1930b. The early development of the root nodule of lucerne (*Medicago sativa* L.). Ann. Bot. (London) **44**, 385—392.
- Thornton, H. G. and Ganguly, N. 1926. The life-cycle of the nodule organism *Bacillus radicicola* (Beij.) in soil and its relation to the infection of the host plant. Roy. Soc. (London) Proc. Ser. B, **90**, 427—451.
- Wilson, P. W. 1935. The carbohydrate-nitrogen relation in symbiotic nitrogen fixation. Wisconsin Agr. Expt. Sta. Research Bul. **129**, 40p.
- Wilson, P. W. 1940. The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation. Madison, Univ. of Wisconsin, 302p.
- Wilson, P. W. and Fred, E. B. 1939. The carbohydrate-nitrogen relation in legume symbiosis. Jour. Amer. Soc. Agron., **31**, 497—502.
- Wunschik, H. 1925. Erhöhung der Wirksamkeit der Knöllchenerreger unserer Schmetterlingsblüher durch Passieren der Wirtspflanze. Centrbl. Bakt. usw. 2. Abt., **64**, 395—445.

*Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann*

Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Atmung pflanzlicher Gewebe

Von

Hans Fischer

Mit 24 Abbildungen

Inhaltsübersicht: I. Kapitel. Temperaturveränderungen in pflanzlichen Geweben. 1. Literatur und Methode. a) Traumatische Temperatursteigerung; b) Parasitogene Temperatursteigerung; c) Apparatur und Arbeitsmethode. 2. Eigene Temperaturnessungen. Der Einfluß von a) *Fusarium herborum* (Cda.) Fr.; b) *Botryotis cinerea* Pers.; c) *Monilia fructigena* Pers. auf die Temperatur im Apfelgewebe; d) Der Einfluß von *Bacterium amylaceum* Sm. et T. auf die Gewebetemperatur bei Chrysanthemen und Pelargonien. — II. Kapitel. Kohlensäuremessungen. 1. Literatur und Methoden. 2. Eigene Versuche. Der Einfluß von *Monilia fructigena* Pers. auf die Kohlensäureabgabe a) bei lebendem Apfelgewebe; b) bei totem Apfelgewebe; c) Besprechung der Ergebnisse. — III. Kapitel. Zuckerabbau durch *Monilia fructigena* Pers. im Apfelgewebe und im Apfelsaft. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

I. Kapitel

Temperaturveränderungen in pflanzlichen Geweben

Daß bei verletzten Pflanzengeweben durch den Wundreiz Temperatur- und Atmungssteigerungen hervorgerufen werden, wurde schon Ende des letzten Jahrhunderts von Richards (1896/97) und 1912 von Tiessen festgestellt. Dagegen wurde das Auftreten von Fieberzuständen bei erkrankten Pflanzen erst viel später erkannt.

Die vorliegende Arbeit schließt an die Untersuchungen von Egli ts an. Er brachte im Jahre 1932 im Institut für spezielle Botanik der E.T.H. Versuche über den Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Kohlensäureabgabe bei Kartoffeln zum Abschluß. — Auf Veranlassung meines Lehrers, Herrn Prof. Dr. E. Gäumann, nahm ich im Jahre 1942 die Versuche mit Temperaturnessungen an kranken Kartoffeln unter seiner Leitung wieder auf und führte sie später an infizierten Äpfeln, Chrysanthemen und Pelargonien weiter. — Herr Prof. Dr. Gäumann und Herrn Prof. Dr. Kobel, Direktor der Eidgenössischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil, möchte ich an dieser Stelle für die Unterstützung meiner Arbeit bestens danken. Allen jenen, die mir mit Rat und Tat beistanden, gebührt ebenfalls mein Dank.

1. Literatur und Methode

a) Traumatische Temperatursteigerung

Richards stellte mit Hilfe der thermoelektrischen Methode bei angeschnittenen Kartoffeln und Zwiebeln wesentliche Temperatursteigerungen fest. Bei Kartoffeln soll sich das Wundfeuer von der Schnittfläche nur über eine Strecke von etwa 2 cm ausgebrettet haben, während bei stark verletzten Zwiebeln in allen Gewebepartien Temperaturerhöhungen festzustellen waren.

Später wurde das Auftreten von Wundfeuer durch Tiessen an Kartoffeln, Äpfeln, Karotten und Rettichen eingehend studiert. Er bewies, daß die Temperaturerhöhung mit der Größe der Verwundung zunimmt, daß sie unmittelbar an der Wunde am größten ist und mit der Entfernung abnimmt. Bei Äpfeln betrug die höchste Wundwärme 0,06–0,08°C. Bei Temperaturmessungen an zwei lebenden Objekten gleicher Art konnte Tiessen keine Temperaturlücke feststellen. Wurden aber die Äpfel oder Kartoffeln halbiert, so war die Temperatur nach Neubildung einer Wundkorkschicht nach 2–3 Tagen in beiden Hälften gleich.

Im Gegensatz zur parasitogenen Temperaturveränderung ist die Wundfeuerreaktion von kurzer Dauer. Sie beschränkt sich auf die Zeit des Heilungsprozesses.

b) Parasitogene Temperatursteigerung

Über Temperaturveränderungen bei infizierten Pflanzen wurde scheinbar wenig gearbeitet. Fischer und Gäumann (1929) erwähnen eine Arbeit von Evans, die über das Auftreten von Fieberzuständen bei erkrankten Pflanzenorganen Auskunft gibt. J. B. P. und M. P. Evans (1922) stellten bei Orangen und Grapefruits, infiziert mit *Penicillium digitatum*, im erkrankten Gewebe einen ganz bestimmten Temperaturanstieg fest. Diese Temperaturerhöhung blieb aus, wenn das Wirtsgewebe vor der Infektion abgetötet wurde. Für die Messungen verwendeten die beiden Forscher Quecksilberthermometer.

1930 berichtete Gäumann über Fieberzustände bei Pflanzen. Er beobachtete, daß in erkrankten Kartoffelknollen nicht nur die mit Bakterien infizierten, sondern auch die gesunden Gewebe eine Temperaturerhöhung aufweisen.

Auch nach Tobler (1931) konnten unter dem Einfluß von Giftwirkung eines Parasiten in Blättern Temperaturerhöhungen beobachtet werden.

Durch eingehende Versuche von Egli (1933) wurden die Resultate von Gäumann (1930) bestätigt. Nach den Messungen von Egli stieg die Temperatur in Kartoffelknollen nach der Infektion mit *Bacillus atrospersicus* v. Hall beim Befallsherd nach etwa 170 Stunden um 0,17°C. Zur gleichen Zeit konnten im intakten Gewebe in einer Entfernung von etwa 2 cm von der Infektionsstelle Temperaturerhöhungen bis 0,08°C und in einem Abstand von etwa 4,4 cm bis 0,03°C gemessen werden. In ähnlichem Maße wurde auch die Kohlensäureabgabe gesteigert. Die Temperaturerhöhungen und die vermehrte CO₂-Produktion dauerten jedoch nicht an, sondern sanken nach Erreichen

der maximalen Werte rasch ab. Nach 10 Tagen war sie, wie aus den Versuchen hervorgeht, nur noch gering.

Man könnte sich fragen, ob die erhöhte Temperatur im gesunden Gewebe nicht nur auf einer Wärmestrahlung vom bakteriellen Abbau im befallenen Gewebe beruhe. Daß dies nicht zutrifft, bewies Egli's folgendermaßen: Wurden Kartoffelknollen vor der Infektion mit Chloroform abgetötet, so erfolgte in den erkrankten Geweben, obgleich die Infektion fast schneller vor sich ging als in den lebenden Geweben, keine messbare Temperaturerhöhung mehr. Dadurch war der Beweis erbracht, daß die in den nicht infizierten Geweben gemessene Wärme nicht durch den bakteriellen Abbau erzeugt wird, sondern als Reaktionswärme der gesunden Gewebe zu betrachten ist.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit werden die folgenden Fragen behandelt:

1. Wie verändern sich die Gewebetemperaturen bei Äpfeln, infiziert mit *Fusarium herbarum* (Cda.) Fr., *Botrytis cinerea* Pers. und *Monilia fructigena* Pers.?
2. Bestehen Temperaturdifferenzen zwischen Stengeltumoren, verursacht durch *Bacterium tumefaciens* Sm. et T. und gesundem Pflanzengewebe bei Chrysanthemen und Pelargonien?

e) Apparatur und Arbeitsmethode

Die Versuche wurden in zwei fensterlosen Kellerräumen durchgeführt. Durch elektrische Heizung mit automatischer Schaltvorrichtung gelang es, die Temperatur bei 20°C auf $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ konstant zu halten. Als Heizkörper dienten Widerstandsdrähtspiralen, denen Widerstandsbrücken vorgeschaltet waren. Um die Versuchsstoffe vor Temperaturschwankungen zu schützen, waren sie in einem gut isolierten Kasten untergebracht.

Die Temperaturdifferenz zwischen krankem und gesundem Pflanzengewebe wurde auf thermoelektrischem Wege mit einem Drehspulspiegelgalvanometer gemessen, wobei die Temperatur im gesunden Gewebe als Nullpunkt angenommen wurde. Die Thermoelemente bestanden aus umspinnenden Kupfer- und Konstantandrähten mit 2 Lötstellen. Gegen äußere Einflüsse waren sie mit öl- und wasserbeständigem Isolierschlauch geschützt.

Bei allen Versuchen wurde gleichzeitig mit 2—3 Versuchsstoffen und mehreren Thermoelementen gearbeitet. Daher mußten diese mit einer Schaltvorrichtung versehen werden, wozu Quecksilberschaltröhren Verwendung fanden (Egli's, 1933).

Vor jeder Versuchsperiode wurden die Thermoelemente auf ihre Empfindlichkeit geprüft und geeicht. Was die Ausführung dieser Vorarbeit anbetrifft, verweise ich auf Egli's (1933). Nach beendeter Eichung wurden die Pole mit + und - Zeichen versehen. Bei allen Temperaturmessungen steckte ich die positiven Pole in die kranken oder unmittelbar angrenzenden Gewebe und die negativen in die gesunden Gewebe.

Während der Versuche war die Transpiration der Versuchsstoffe auszuschalten, sonst hätten eventuelle Temperatursteigerungen durch erhöhte Transpiration ausgeglichen werden können. Um dies zu verhindern, wurde die Luft im Versuchskasten mit Wasser gesättigt.

Über Größe und Innenausstattung des Versuchskastens verweise ich auf die Angaben von Egli ts (1933).

Die Versuchsobjekte lagen in einer Drahtgitter-Verbandstoffkammer über dem Wasserspiegel auf Glasplatten, welche durch Korkzapfen gestützt wurden (Abb. 1). Nach Anlage der Thermoelemente überdeckte ich die Drahtgitterzellen mit Löschnpapier- und Verbandstoffstreifen, deren Enden mit dem Wasser in Verbindung standen. Die ersten Versuche (Objekt 1—65) wurden zur Hauptsache an Kartoffeln durchgeführt und werden hier nicht besprochen.

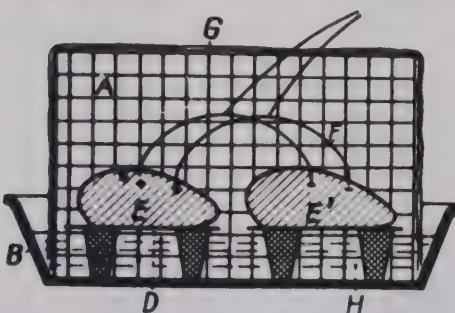


Abb. 1
Drahtgitter-Verbandstoffkammer. A Drahtgitterzelle, B Glasschale, C Korkzapfen, D Glasplatte, E Infizierte Apfelhälfte, E' Gesunde Apfelhälfte, F Thermoelemente, G Verbandstoff-Filtrerpapierstreifen, H Wasser

Da der Zucker- und Stickstoffgehalt auf der besonnten Apfelseite im allgemeinen etwas höher ist als auf der Gegenseite, wurde der Längsschnitt mitten durch diese Partien geführt. Die Schnittflächen wurden mit einer Wachs-Paraffin-Schicht überzogen.

Daß die thermischen Verhältnisse in einem Apfel ausgeglichen sind, hat schon Tiessen (1912) festgestellt. Er konstatierte, wie bereits erwähnt, im Zusammenhang mit Wundfeiermessungen an halben Äpfeln, daß nach 2—3 Tagen beide Apfelhälften wieder gleiche Temperaturen aufweisen. Gestützt auf diese Feststellungen verzichtete ich auf eine Nachprüfung und nahm an, daß die Gewebetemperaturen in 2 zueinandergehörenden Apfelhälften gleich sind.

Nachdem sich die Fruchthälften 1—2 Tage im Versuchskasten an die neuen Verhältnisse gewöhnt hatten, wurde die eine Hälfte mit 4—6 eng beieinanderliegenden Nadelstichen steril verletzt und die andere an der entsprechenden Stelle mit einem Pilz aus einer Reinkultur infiziert. In ungefähr gleichen Abständen von der Verletzung bzw. Impfstelle aus wurden nun die Pole der Thermoelemente etwa 5 mm tief ins Apfelgewebe gesteckt, die +Pole in die infizierte, die —Pole in die gesunde Apfelhälfte. Durch die Verletzung des gesunden Teiles wurde auch hier eine Wundreaktion ausgelöst. Es ist anzunehmen, daß diese zu Beginn der Messungen in beiden Hälften ungefähr

Die Temperaturmessungen wurden an halben Äpfeln ausgeführt. Ich wählte dafür 2 späte Apfelsorten, nämlich Champagner Reinette und Glockenapfel. Im Lagerraum von 0—20°C blieben diese Früchte bis April/Mai recht frisch.

Vor Beginn der Versuche wurden ganz einwandfreie Äpfel mittlerer Größe aus dem Kühlraum genommen und zur Akklimatisierung 1—2 Tage bei der Versuchstemperatur von 20°C gehalten. Hierauf wurden speziell Stiel- und Kelchseite zuerst mit Brunnengewasser, nachher mit 70 prozent. Alkohol gereinigt und mit sterilem, destilliertem Wasser gespült.

gleich war und deshalb auf den Verlauf der parasitogenen Temperaturkurve keinen erheblichen Einfluß ausübt. Die thermischen Veränderungen in den infizierten Geweben konnten deshalb auf die Temperatur der gesunden Apfelhälfte als auf den Nullpunkt bezogen werden.

2. Eigene Temperaturmessungen

a) Der Einfluß von *Fusarium herbarum* (Cda.) Fr. auf die Temperatur im Apfelgewebe

Fusarium herbarum gehört zu den Fäulnisregnern des Lagerobstes. Der Pilz verursacht hauptsächlich Kernhausfäulnis, kann aber auch, allerdings mehr nur ausnahmsweise, auf der Oberfläche Infektionen hervorrufen. Sein Wachstumsoptimum liegt zwischen 15 und 25°C. Trotzdem entwickelte er sich bei der Versuchstemperatur von 20°C auf den Apfeln verhältnismäßig langsam.

Wie gelangt der Pilz ins Apfelinne? *Fusarium herbarum* (*F. putrefaciens*) ist nach Osterwalder (1934) ein Wundparasit. Nach Beobachtungen dieses Autors beginnt die *Fusarium*-Kernhausfäulnis oft in der Stielhöhle. Es ist anzunehmen, daß durch Eindrücken des Stiels eine Wunde entsteht, wo der Pilz Fuß fassen kann. In anderen Fällen erfolgt die Ansteckung des Kernhauses durch die Kelch- oder Stempelröhre, die bei einzelnen Apfelsorten, wie z. B. Schöner von Boskoop, Danziger Kantapfel u. a. bis ins Kerngehäuse offen ist. Der Grund, warum der Pilz mit Vorliebe das Innere der Frucht befällt, soll in einer Abweichung der chemischen Zusammensetzung der inneren und äußeren Fruchtpartie liegen. Nach Osterwalder (1934) ist das Fruchtfleisch unmittelbar um das Kernhaus herum gerbstoffärmer als die Rindenpartie.

Die Versuche dauerten meist 4—6 Tage. Täglich wurden durchschnittlich 4 Messungen durchgeführt. Die Empfindlichkeit der verwendeten Thermoelemente betrug hier 0,00210 bis 0,00217°C je 1 mm der Skaleneinteilung. Nach Abschluß der Versuche wurden die Apfelhälften entzweigeschnitten, um die Ausdehnung der Infektion festzustellen (Abb. 2).

Aus meinen Versuchen erwähne ich 2 Beispiele, aus denen hervorgeht, daß durch die Infektion messbare Temperaturerhöhungen verursacht werden. Die Gewebetemperatur erreichte beim Glockenapfel (Abb. 3) unmittelbar bei der Infektionsstelle (T_1 , 0,2 cm) nach 41 Stunden einen Wert von 0,059°C, stieg noch etwas an und sank nach 68 Stunden wieder langsam ab. In einem Abstand von 2 cm (T_2) war dagegen auch nach 88 Stunden, nachdem die Infektionsstelle einen Durchmesser von etwa 1 cm erreicht hatte, keine wesentliche Temperaturerhöhung festzustellen.

Bei der Champagner Reinette (Abb. 4) stieg die Gewebetemperatur in einer Entfernung von 0,5 cm (T_1) von der Impfstelle von Anfang stetig an

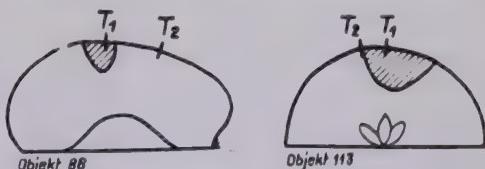


Abb. 2
Halbe Apfel, infiziert mit *Fusarium herbarum* (Cda.) Fr. Anordnung der Thermoelemente (T_1 und T_2) und Ausdehnung der Infektion bei Abschluß des Versuches (Objekt 86: Glockenapfel; Objekt 113: Champagner Reinette)

und erreichte nach 132 Stunden mit $0,059^{\circ}\text{C}$ ihren Höhepunkt. Auch in einem Abstand von 1,2 cm (T_2) machten sich nach 61 Stunden Temperaturerhöhungen bemerkbar. Über die zahlenmäßigen Ergebnisse orientiert Tabelle 1.

Der abweichende Verlauf der Temperaturkurven in den Abb. 3 und 4 scheint vor allem durch die Sorte bedingt zu sein.

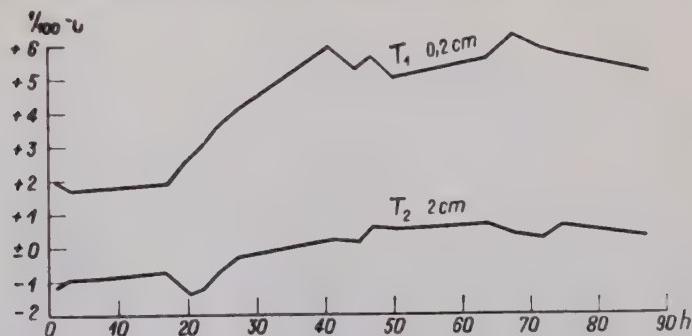


Abb. 3

Temperatursteigerung bei einem Glockenapfel (Objekt 86) im Verlaufe einer Infektion mit *Fusarium herbarum* (Cda.) Fr., gemessen in einem Abstand von 0,2 cm (T_1) bzw. 2 cm (T_2) von der Impfstelle

Tabelle 1
Ergebnisse der Temperaturmessungen an halbierten, mit *Fusarium herbarum* infizierten Äpfeln
(Temperaturdifferenzen in $^{\circ}\text{C}$)

Stunden nach der Infektion	Glockenapfel		Stunden nach der Infektion	Champ. Reinette	
	T_1 0,2 cm von der Impfstelle	T_2 2 cm von der Impfstelle		T_1 0,5 cm von der Impfstelle	T_2 1,2 cm von der Impfstelle
1	+ 0,0191	- 0,0116	13	+ 0,0089	- 0,0109
3	+ 0,0167	- 0,0101	16	+ 0,0056	- 0,0082
17	+ 0,0193	- 0,0078	19	+ 0,0058	- 0,0107
20	+ 0,0262	- 0,0139	22	+ 0,0082	- 0,0105
22	+ 0,0308	- 0,0132	36	+ 0,0071	- 0,0051
24	+ 0,0357	- 0,0078	40	+ 0,0078	- 0,0074
27	+ 0,0404	- 0,0038	43	+ 0,0119	- 0,0048
41	+ 0,0587	+ 0,0006	46	+ 0,0145	- 0,0008
44	+ 0,0530	+ 0,0004	61	+ 0,0266	+ 0,0011
47	+ 0,0558	+ 0,0048	64	+ 0,0249	+ 0,0057
50	+ 0,0498	+ 0,0053	67	+ 0,0260	+ 0,0067
64	+ 0,0547	+ 0,0055	70	+ 0,0353	+ 0,0072
68	+ 0,0617	+ 0,0027	85	+ 0,0377	+ 0,0135
72	+ 0,0576	+ 0,0023	88	+ 0,0398	+ 0,0200
75	+ 0,0555	+ 0,0046	91	+ 0,0426	+ 0,0196
88	+ 0,0508	+ 0,0017	95	+ 0,0426	+ 0,0175
			109	+ 0,0443	+ 0,0204
			114	+ 0,0461	+ 0,0216
			116	+ 0,0567	+ 0,0216
			119	+ 0,0498	+ 0,0246
			132	+ 0,0593	+ 0,0251
			145	+ 0,0577	+ 0,0255

Im Gegensatz zu den mit *Bacillus atrosporus* infizierten Kartoffelknollen, wo noch in einem Abstand von 4,4 cm von der Infektionsstelle aus Temperaturerhöhungen festgestellt werden konnten, scheint sie im Apfel die Reizwirkung von *Fusarium herbarum* bei geringer Infektionsgröße nur in

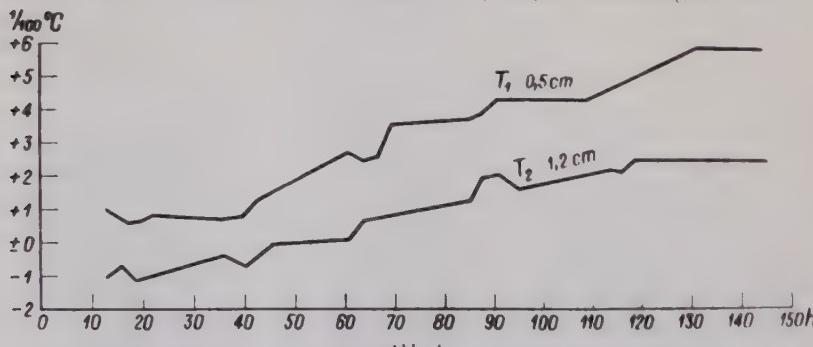


Abb. 4

Temperatursteigerung bei einem Apfel der Sorte Champagner Reinette (Objekt 113) im Verlaufe einer Infektion mit *Fusarium herbarum*, gemessen in einem Abstand von 0,5 cm (T_1) bzw. 1,2 cm (T_2) von der Impfstelle

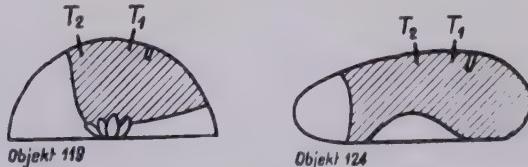
einem Umkreis von etwa 1 cm um den Befallsherd auf die Gewebetemperatur bemerkbar zu machen. Das verhältnismäßig kleine Ausmaß der thermisch meßbaren geweblichen Abwehrreaktion ist vermutlich auf den langsamen und milden Verlauf der Infektion zurückzuführen.

b) Der Einfluß von *Botrytis cinerea* Pers. auf die Temperatur im Apfelmehr

Botrytis cinerea verursacht beim Lagerobst eine Graufäule. Auf Äpfeln ist sie seltener anzutreffen als auf Birnen und spielt keine große Rolle. — Nach Gäumann und Naef (1947) hat *Botrytis cinerea* ein breites Wachstumsoptimum zwischen 9 und 27°C mit einem undeutlichen Gipfel bei 15—18°C.

Hat dieser Pilz auf Äpfeln einmal Fuß gefaßt, so entwickelt er sich je Zeiteinheit bei 20°C bedeutend rascher als *Fusarium herbarum*. Dadurch wurde die Zeit des Krankheitsablaufes bei meinen Versuchen verkürzt.

Ein Versuch dauerte 5—6 Tage bei durchschnittlich 4 Messungen je Tag. Die Temperaturveränderungen wurden wiederum bei einem Glockenapfel und einer Champagner Reinette verfolgt. Die Anordnung der Thermos-



Halbe Äpfel, infiziert mit *Botrytis cinerea* Pers. Anordnung der Thermoelemente (T_1 und T_2) und Ausdehnung der Infektion bei Abschluß des Versuches. (Objekt 119: Champagner Reinette; Objekt 124: Glockenapfel)

elemente (T_1 und T_2) und die Ausdehnung der Infektion bei Abschluß der Versuche sind in Abb. 5 dargestellt.

Botrytis cinerea bewirkt in ungefähr gleichem Abstand von der Impfstelle bei Glockenäpfeln einen rascheren Temperaturanstieg als bei Champagnerreinetten. Es zeigt sich also auch hier ein sortenbedingter Unterschied in der Intensität der Abwehrreaktionen.

In diesem Beispiel begann beim Glockenapfel die Temperatur in einem Abstand von 0,5 cm (T_1) nach einem Tag und in einem solehen von 1,6 cm (T_2) von der Impfstelle nach 2 Tagen stark anzusteigen (Abb. 6). Es ist kaum anzunehmen, daß zu dieser Zeit die Infektionsstelle bereits einen Durchmesser von über 3 cm erreicht hatte, was vermuten läßt, daß auch hier in einem gewissen Umkreis um den Befallsherd im Apfelgewebe Fieberzustände auftraten. Sowohl in der Entfernung von 0,5 cm als auch von 1,6 cm von der Impfstelle erreichte die Gewebetemperatur mit 0,079 bzw. 0,082°C ihren Höhepunkt. Diese Temperaturen hielten nicht lange an, sondern sanken verhältnismäßig rasch ab.

Bei der Champagnerreinette war auch in diesem Versuch der Temperaturanstieg weniger steil als beim Glockenapfel (Abb. 7). Nach der Infektion nahm die Gewebetemperatur im Abstand von 0,6 cm (T_1) von der Impfstelle fast stetig

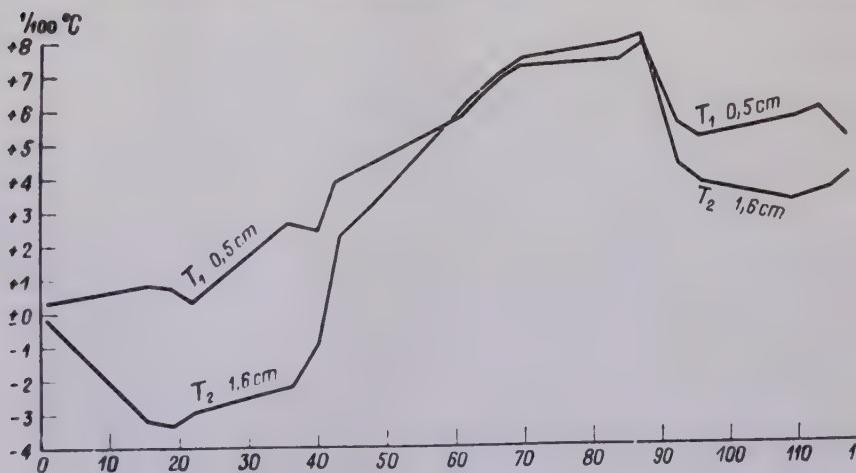


Abb. 6

Veränderung der Gewebetemperatur bei einem Glockenapfel (Objekt 124) im Verlaufe einer Infektion mit *Botrytis cinerea*. — Temperaturkurve der 0,5 cm (T_1) bzw. 1,6 cm (T_2) von der Impfstelle entfernten Gewebe

zu und erreichte erst nach 137 Stunden mit 0,092°C ihren Höhepunkt. Auch in einer Entfernung von 2,1 cm (T_2) setzte nach 61 Stunden eine Temperatursteigerung ein. Nach der Ausdehnung der Infektion bei Abschluß des Versuches (145 Stunden) ist zu schließen, daß die Fäulnisstelle nach 61 Stunden den Punkt T_2 (2,1 cm) noch nicht erreicht hatte. Der Pilz schien also auch hier beim fortschreitenden Wachstum die noch nicht direkt angegriffenen

Gewebe über eine gewisse Strecke in einen tieberhaften Erregungszustand zu versetzen.

c) Der Einfluß von *Monilia fructigena* Pers. auf die Temperatur im Apfelgewebe

Monilia fructigena ist der wichtigste Fäulniserreger des reifenden Kernobstes am Baum. Er befällt vor allem verletzte Früchte (Wundparasit) und entwickelt sich nach dem Zustandekommen der Infektion sehr rasch. Das

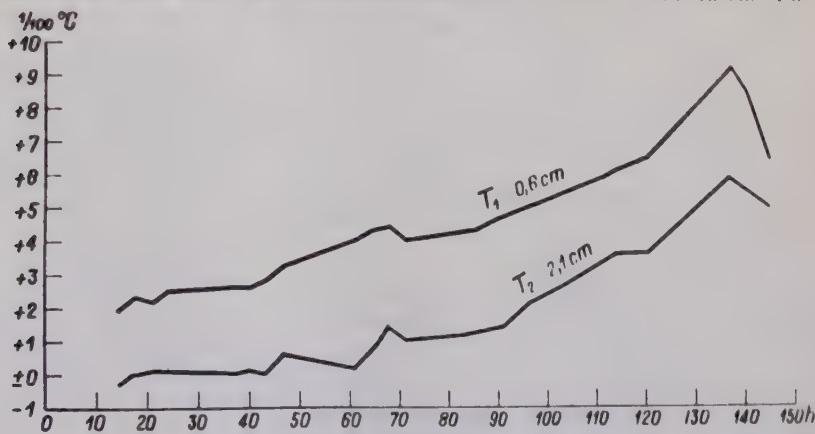


Abb. 7

Veränderung der Gewebetemperatur bei einem Apfel der Sorte Champagner Reinette (Objekt 119) im Verlaufe einer Infektion mit *Botrytis cinerea*. — Temperaturkurve 0.6 cm (T_1) bzw. 2.1 cm (T_2) der von der Impfstelle entfernten Gewebe

Wachstumsoptimum dieses Pilzes liegt bei 22–25°C. Nach den Beobachtungen von A. K a t s e r (1933) besteht keine besondere Sortenempfindlichkeit oder -resistenz. Im großen und ganzen werden alle Sorten in gleichem Maße von *Monilia fructigena* befallen. Die gelbbraunen, meist in konzentrischen Kreisen angeordneten Sporenpolster, die bei einer Temperatur von etwa 20°C schon 5–6 Tage nach der Infektion in Erscheinung treten, sind ein charakteristisches makroskopisches Erkennungsmerkmal der Moniliäfäulnis. Erkrankte Äpfel sind eher von trocken-fester Beschaffenheit und nicht weich oder gar breiig wie z. B. bei der Penicillium-fäule. Sie verfallen deshalb nicht so schnell der Auflösung und Zersetzung. Diese Eigenart steht vermutlich mit der Enzymsbildung des Pilzes im Zusammenhang.

Auf dem Lager, wo der Pilz keine großen Schäden verursacht, werden eigenartigerweise meist keine Sporenpolster gebildet. Die Epidermis der Äpfel verfärbt sich dunkelbraun bis schwarz, weshalb man diese Lagerkrankheit als Schwarzfäule bezeichnet.

Bei 20°C (Versuchstemperatur) wächst *Monilia fructigena* auf Äpfeln noch rascher als *Botrytis cinerea*. Zudem macht sie keine besonderen Ansprüche an das Nährsubstrat und läßt sich gut kultivieren. Aus diesen Gründen wurde dieser Pilz auch für die später noch zu besprechenden Atmungs-Kohlensäure-Versuche verwendet.

Als Versuchsstoffe dienten auch hier Champagner Reinetten und Glockenäpfel, die vor den Temperaturmessungen in üblicher Weise aufbewahrt und behandelt wurden.

Je Versuchsstoff verwendete ich wieder 2 Thermoelemente. Die + Pole waren in verschiedenen Abständen von der Infektionsstelle, die - Pole entsprechend an der gesunden Apfelhälfte angebracht. Bei fortschreitendem Wachstum des Pilzes wurden also an zwei verschiedenen Punkten im Apfel (T_1 und T_2) täglich 3—4 mal die Temperaturveränderungen gemessen. Ein Versuch dauerte 5—6 Tage.

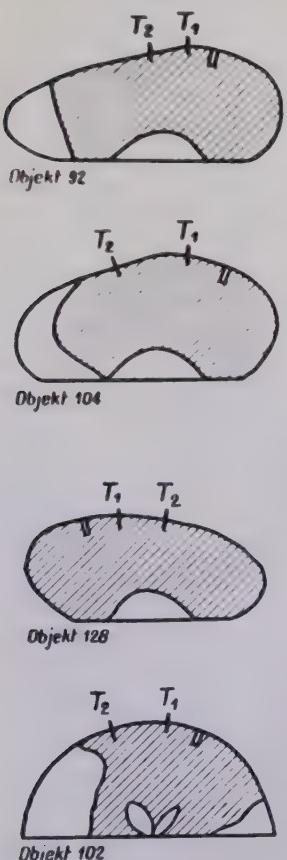


Abb. 8

Halbe Äpfel, infiziert mit *Monilia fructigena* (Objekt 92, 104 und 128 sind Glockenäpfel, Objekt 102 ist eine Champagner Renette). Anordnung der Thermoelemente (T_1 und T_2) und Ausdehnung der Infektionen bei Abschluß der Versuche

Im folgenden werden drei Beispiele an Glockenäpfeln (Objekt 92, 104 und 128) und eines an einer Champagner Renette (Objekt 102) besprochen. Die Anordnung der Thermoelemente (T_1 und T_2) bei den einzelnen Objekten und das Ausmaß der Infektion bei Abschluß der Versuche sind in Abb. 8 dargestellt.

Die Temperaturveränderungen sind in den mit *Monilia fructigena* infizierten Glockenäpfeln und Champagner Reinetten ganz ähnlich. Abweichungen, wie sie aus den Temperaturkurven in Abb. 9 und 10 hervorgehen, sind wohl auf die Anordnung der Thermoelemente, auf die Vitalität der verwendeten Pilzkultur, auf Reife, Alter, Herkunft der Äpfel und auf andere Faktoren zurückzuführen. Beim Vergleich aller Versuchsergebnisse ist festzustellen, daß in den infizierten Glockenäpfelgeweben die Temperatur von $0,095^\circ\text{C}$ nie überschritten wurde, wogegen sie bei den Champagner Reinetten gelegentlich $0,115^\circ\text{C}$ erreichte. Temperatursteigerungen von $0,17^\circ\text{C}$, wie sie von Egglits (1933) an Kartoffeln der Sorte Kaiserkrone, infiziert mit *Bacillus alrosepticus*, gemessen worden sind, konnten an erkrankten Äpfeln nicht festgestellt werden.

Eigenartigerweise trat hier bei fast allen infizierten Apfelhälften nach der Impfung nicht sofort eine Temperatursteigerung, sondern eine Senkung ein, die etwa 2 Tage andauerte. Dies war nicht nur bei der Impfstelle, sondern auch noch in einem Abstand von 2—3 cm festzustellen. Eine sichere Erklärung kann ich dafür nicht abgeben. Es ist möglich, daß durch Toxine der konidienreichen Impfstücke eine Art Schockwirkung oder Hemmung auf die Zelltätigkeit des Wirtsgewebes ausgeübt wurde. Nach dem anfänglichen Verlauf der thermischen Kurven bei Objekt 92 und 104 in Abb. 9 scheint diese Temperaturabnahme mit der Entfernung von

der Impfstelle geringer zu werden. Doch gibt es auch Beispiele, wo dies nicht zutrifft. Diese unerwartete Temperaturveränderung als Verdunstungskälte infolge erhöhter Transpiration zu deuten, ist wohl kaum anängig, da die umgebende Luft mit Wasser gesättigt war.

Die thermische Depression, die im infizierten Apfelgewebe meist 2 Tage andauerte, scheint einer Stille vor dem Sturm gleichzukommen. Nach dieser Zeit begann nun die Gewebetemperatur sowohl bei der Impfstelle als auch in einem Abstand von 2 bis 3 cm davon stark anzusteigen. Bei den Glockenäpfeln setzte der Temperaturanstieg (z. B. bei Objekt 92) nach 56 Stunden in einer Entfernung von 0.6 cm (T_1) und 1.7 cm (T_2) von der Impfstelle gleichzeitig ein und bei Objekt 104 nach 63 Stunden sogar im Abstand von 1.1 cm und 3.1 cm. Nach diesen Beispielen ist wiederum anzunehmen, daß durch die Stoffwechselprodukte oder toxischen Stoffe, die vom Pilz ausgeschieden

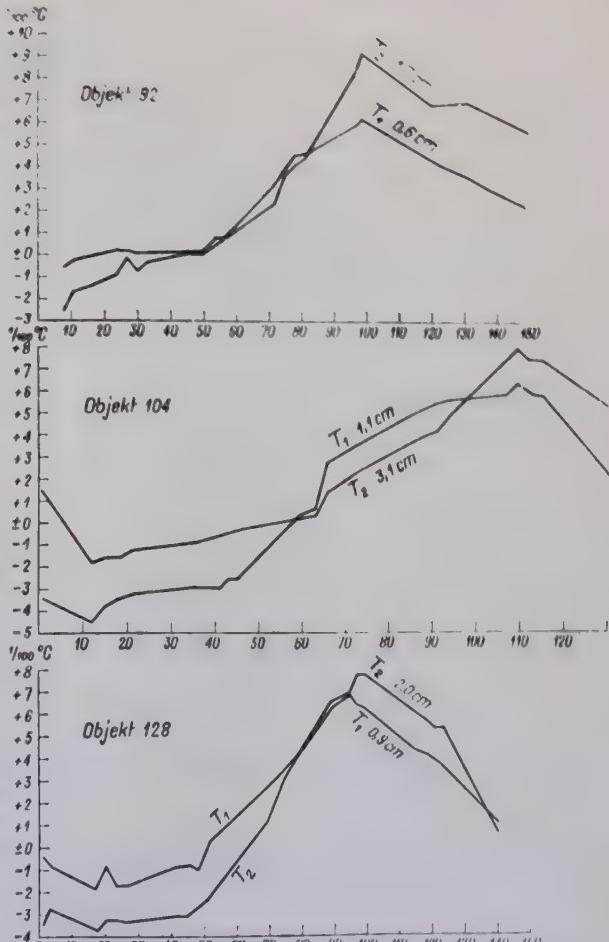


Abb. 9

Veränderung der Gewebetemperatur bei Glockenäpfeln im Verlaufe einer Infektion mit *Monilia fructigena*. Gewebetemperatur, gemessen bei Objekt 92 im Abstand von 0.6 cm (T_1) bzw. 1.7 cm (T_2), bei Objekt 104 im Abstand von 1.1 cm bzw. 3.1 cm und bei Objekt 128 im Abstand von 0.9 cm bzw. 2 cm von der Impfstelle. Abszisse: Versuchszeit in Stunden.

werden, im noch nicht invadierten Gewebe antitoxische Abwehrreaktionen¹⁾ ausgelöst werden.

Wie die Beispiele zeigen, werden die Höchsttemperaturen in verschiedenen Entfermungen von den Impfstellen gleichzeitig erreicht. Dies ist vor allem auf die stürmische Entwicklung des Pilzes im Apfelgewebe zurückzuführen. Ausnahmen wurden gelegentlich bei den Champagner Reinetten beobachtet.

Nachdem die Gewebetemperatur ihren Höhepunkt erreicht hat, sterben vermutlich die Zellen ab, und die Temperatur sinkt ungefähr in gleichem Maße, wie sie gestiegen ist, gegen den Nullpunkt hin.

Man könnte sich nun fragen, ob die Temperatursteigerungen im infizierten Apfel nicht zum Teil auch auf mechanischer Ausbreitung der Abbau-

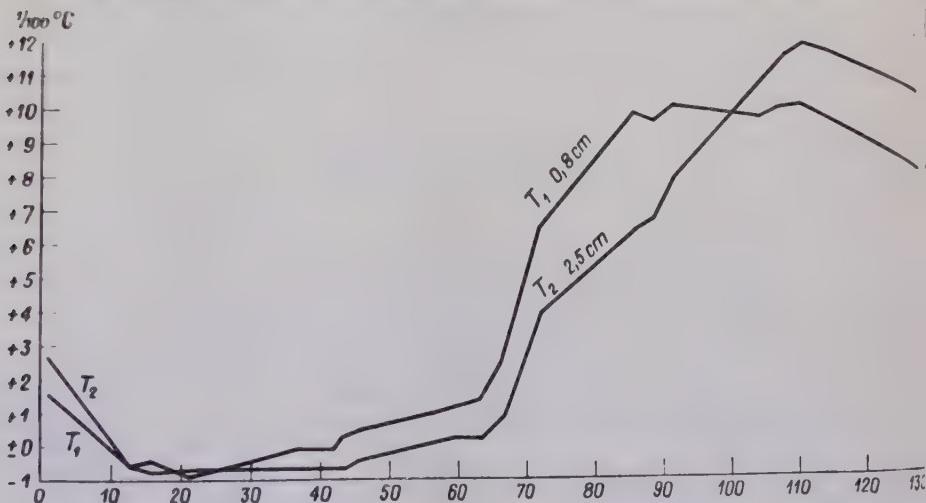


Abb. 10

Veränderung der Gewebetemperatur bei einem Apfel der Sorte Champagner Reinette (Objekt 102) im Verlaufe einer Infektion mit *Monilia fructigena*. — Temperaturkurve der 0,8 cm (T₁) bzw. 2,5 cm (T₂) von der Impfstelle entfernten Gewebe

wärme vom Infektionsherd aus, speziell durch den Zuckerverbrauch ($C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 = 6 H_2O + 6 CO_2 + 674 \text{ kcal}$), beruhen. — So werden z. B. in der Keule von *Arum italicum* zur Zeit der Blüte beträchtliche Wärmemengen produziert. Nach Untersuchungen von G. Kraus (1894/95) besteht der Kolben vor dem Aufblühen aus $\frac{3}{5}$ Wasser und $\frac{2}{5}$ Trockensubstanz, in welcher sich 80% Kohlehydrate befinden, die im Laufe weniger Stunden verbraucht werden und nachweisbar fast vollkommen zu Kohlensäure und Wasser verbrennen. — J. O. Gaskill und J. G. Gilman (1939) stellten fest, daß durch verschiedene Pilze, z. B.

1) Nach Gäumann (1946) richten sich die antitoxischen Abwehrreaktionen nicht in erster Linie gegen den Erreger, sondern gegen seine Stoffwechselprodukte, insbesondere seine Toxine, ferner gegen die nekrogenen Abbaustoffe der eigenen lädierten Zellen und Gewebe und suchen sie beide unschädlich zu machen.

durch *Aspergillus flavus* Link., *Aspergillus terreus* Thom im Maismehl, allerdings nur unter Beigabe von stickstoffhaltigen Substanzen, wie Asparagin, Ammoniumphosphat oder Kalziumnitrat Temperaturerhöhungen von einigen Grad Celsius verursacht werden können. Man glaubt, daß durch diese Pilze zuerst Hemizellulose und später echte Zellulose oder andere Kohlenstoffverbindungen abgebaut werden.

Am einfachsten hätte man diese Frage bei den Äpfeln durch Temperaturmessungen an toten infizierten Früchten lösen können, wie dies Evans (1922) bei toten Orangen und Grapefruits, infiziert mit *Penicillium digitatum*, oder Gäumann (1930) und Egli (1933) an markotisierten Kartoffeln, infiziert mit *Bacillus atrosepticus*, durchgeführt hatten. Bei Temperaturmessungen an totem infiziertem Pflanzengewebe konnten in diesen Fällen keine Temperaturveränderungen mehr festgestellt werden. Leider war es mir nicht möglich, solche Versuche auszuführen.

d) Der Einfluß von *Bacterium tumefaciens* Sm. et T. auf die Gewebetemperatur bei Chrysanthemen und Pelargonien

Bacterium tumefaciens Sm. et T. ist der Erreger des bakteriellen Pflanzenkrebses.

Im April 1943 infizierte ich durch Nadelstiche die Stengel von 7 jungen Chrysanthemen- und Pelargonienpflänzchen mit diesem Bakterium. — Die Kontrollpflanzen wurden am entsprechenden Stengelteil steril verletzt. — Das Infektionsmaterial stammte von einer 9 Tage alten Kultur. Als Nährboden diente Kartoffelsaft-Glukose-Pepton-Agar.

Impf- und Kontrollstellen verband ich mit stark feuchter Watte und Cellophanpapier. Nach einigen Tagen wurde dieser Verband abgelöst. — 6 Monate nach der Infektion wiesen 6 Chrysanthemen und 6 Pelargonien große Tumore mit einem Durchmesser von 2 bis 3 cm auf.

Nach Gäumann (1930) treten auch bei infizierten wachsenden Pflanzenteilen Fieberreaktionen auf. Es ergab sich nun für uns folgende Fragestellung:

Bestehen bei infizierten Chrysanthemen und Pelargonien an derselben Pflanze Temperaturdifferenzen:

1. zwischen Tumor- und gesundem Stengelgewebe und
2. zwischen gesundem Trieb und der Übergangsstelle Tumor-Stengel?

Die Temperaturmessungen erstreckten sich natürlich nicht über die ganze Zeit des Krankheitsverlaufes. Sie wurden 6 Monate nach der Impfung während

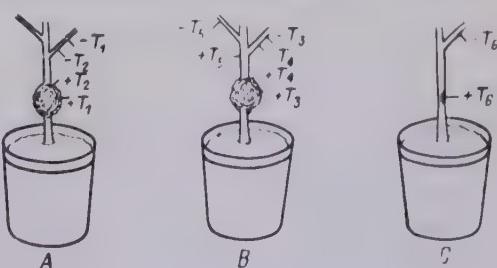
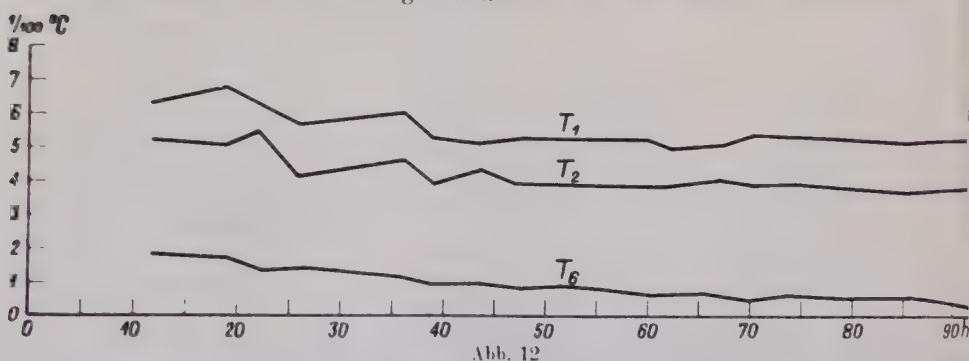


Abb. 11

Chrysanthemum indicum (A und B) mit Stengeltumor, verursacht durch *Bacterium tumefaciens*. C ohne Infektion (Kontrollpflanze). Anordnung der Thermoelemente (T₁ bis T₆)

2—4 Tagen ausgeführt. Es war lediglich festzustellen, ob zwischen den erwähnten pflanzlichen Geweben Temperaturdifferenzen bestehen oder nicht.

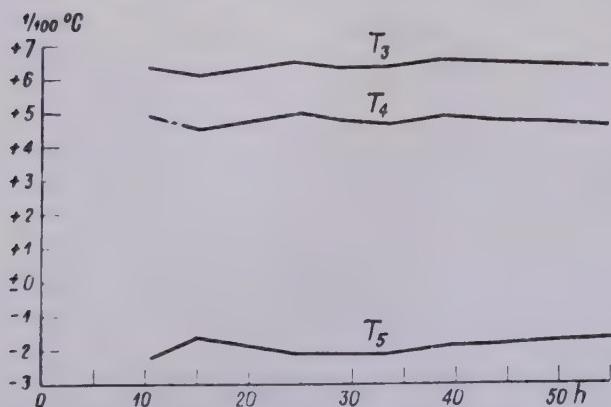
Zur Akklimatisation wurden die Pflanzen vor den Messungen etwa 2 Tage im Versuchsräum (20°C) bei künstlichem Licht und dann nach einige Stunden im dunklen Versuchskasten gehalten.



Gewebetemperatur in einem Stengeltumor bei *Chrysanthemum indicum*, verursacht durch *Bacterium tumefaciens*. — T₁ Temperaturerhöhung im Tumorgewebe, T₂ Temperaturerhöhung an der Übergangsstelle zum gesunden Stengelgewebe (Pflanze A), T₆ Temperatur im nicht infizierten Stengelgewebe (Kontrollpflanze C).

Die Anordnung der Thermoelemente bei *Chrysanthemum indicum* geht aus Abb. 11 hervor. Die Pole der Thermoelemente wurden 2—4 mm tief in die Stengelgewebe gesteckt.

Bei den Chrysanthemen bestand zwischen dem Tumorgewebe und dem gesunden Gewebe eines Seitentriebes eine deutliche Temperaturdifferenz. Wie die erwähnten Beispiele zeigen, war die Gewebetemperatur im Tumor der Pflanze A



Gewebetemperatur in einem Stengeltumor bei *Chrysanthemum indicum*, verursacht durch *Bacterium tumefaciens*. — Temperatursteigerung im Tumorgewebe (T₃), an der Übergangsstelle zum gesunden Stengelgewebe (T₄) und im nicht infizierten Stengelgewebe (T₅) (Pflanze B).

durchschnittlich 0.055°C (T₁) höher als im gesunden Seitentrieb und an der Übergangsstelle zum gesunden Stengelgewebe 0.04°C (T₂) (Abb. 12). Bei der Pflanze B war die Temperatur im Tumor sogar 0.065°C (T₃) und an der

Übergangsstelle zum gesunden Gewebe durchschnittlich $0,017^{\circ}\text{C}$ (T_1) hoher als im Seitentrieb. Mit der Entfernung vom Tumor nahm die Temperatur rasch ab und war bei diesem Beispiel im Abstand von etwa 1,5 cm (T_4) sogar etwas niedriger als im Seitentrieb (Abb. 13). — Zwischen dem verkorkten Wundgewebe der Kontrollpflanze C und einem unverletzten Pflanzenteil war die Temperaturdifferenz (T_c) ganz gering (Abb. 12).

Bei den Pelargonien sind die thermischen Verhältnisse in den Tumorgeweben ganz ähnlich wie bei den Chrysanthemen. Die Anordnung der Thermoelemente bei den Pelargonien ist aus Abb. 14 ersichtlich.

Wie aus den Temperaturkurven in Abb. 15 und 16 hervorgeht, war die Temperatur in den Tumorgeweben der Pflanze A durchschnittlich $0,03^{\circ}\text{C}$ (T_1) und bei der Pflanze B $0,04^{\circ}\text{C}$ (T_2) höher als im gesunden Gewebe. In geringer Entfernung vom Tumor konnte keine wesentliche Temperaturveränderung mehr festgestellt werden (T_3 in Abb. 15). Bei der Kontrollpflanze C bestand wiederum eine geringe Temperaturdifferenz von etwa $0,009^{\circ}\text{C}$ (T_4) zwischen der verkorkten Wundstelle und einem Seitentrieb (Abb. 16).

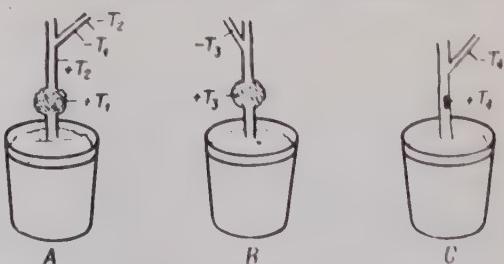


Abb. 14

Pelargonium zonale (A und B) mit Stengeltumor, verursacht durch *Bacterium tumefaciens*. C Kontrollpflanze ohne Infektion. Anordnung der Thermoelemente (T_1 bis T_4)

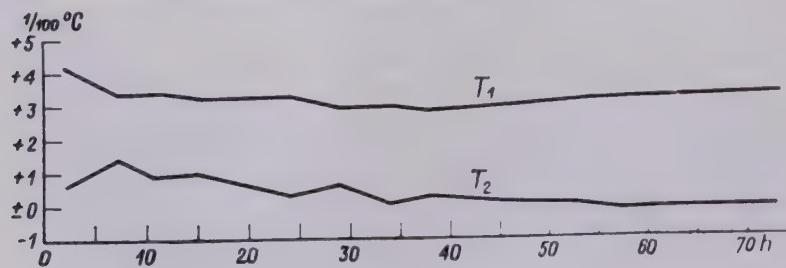


Abb. 15

Der Einfluß von *Bacterium tumefaciens* auf die Temperatur im Stengelgewebe von *Pelargonium zonale*. — T_1 Temperaturerhöhung im Tumorgewebe, T_2 Temperatur im gesunden Stengelgewebe (Pflanze A)

Auch von den Kartoffelkrebstumoren (Erreger: *Synchytrium endobioticum*) [Schilb.] Perc. weiß man, daß ihre Temperatur einige hundertstel Grade höher ist, als in den angrenzenden gesunden Geweben (Gäumann 1946).

Daß in pflanzlichen Tumoren Stoffwechselstörungen stattfinden, haben Stapp und Pfeill (1939) durch chemische Untersuchungen an ein und derselben Pflanze gezeigt. Sie analysierten vor allem das durch *Bacterium tum-*

tumefaciens verursachte Tumorgewebe von Zuckerrüben. Diese Forscher kamen zu folgenden Feststellungen: Im Tumorgewebe waren die Wasserstoffionenkonzentration, der Gesamtzuckergehalt, das Gärvermögen, sowie der Gehalt an Ca und Mg niedriger, dagegen die Katalaseaktivität, der Gehalt an Glukose, N, P und K und meist auch die Trockensubstanz höher als im Normalgewebe.

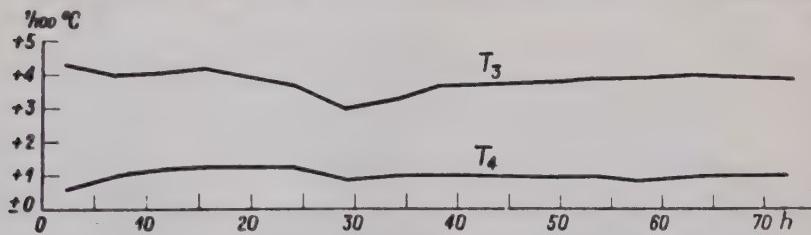


Abb. 16

Temperaturerhöhung im Tumorgewebe bei *Pelargonium zonale*, verursacht durch *Bacterium tumefaciens*. — T₃ Erhöhte Temperatur im Tumorgewebe (Pflanze B). — T₄ Temperatur im nicht infizierten Stengelgewebe (Kontrollpflanze C)

In den angrenzenden Geweben gingen die Abweichungen in gleicher Richtung, doch waren sie selten so deutlich wie im Tumor selbst, sondern näherten sich mehr den Werten der weiter entfernten, anscheinend gesunden Gewebe. Zwischen diesen und den Geweben nicht infizierter Pflanzen bestanden nur unbedeutende Unterschiede.

II. Kapitel

Kohlensäuremessungen

1. Literatur und Methoden

Die Atmung gesunder, reifender Äpfel durchläuft anfänglich ein Minimum, steigt kurz vor der Eßreife stark an und kann in doppelter Höhe ihr Maximum erreichen. Nachher sinkt sie gleichmäßig bis zum Tode der Frucht (Kidd und West, 1921). Auch bei anderen Früchten nimmt die Atmung einen ähnlichen Verlauf. — Zu Beginn des Atmungsanstieges setzt nach Hullme (1936) bei Äpfeln, die bei 12°C lagerten, die Bildung von Eiweißsubstanzen ein, die nach Erreichen des Atmungsmaximums zum Stillstand kommt. Im gleichen Maße, wie der Eiweißgehalt ansteigt, d. h. durch Tanninfällbare Stickstoffverbindungen, sollen andere einfache, organische, stickstoffhaltige Substanzen wie Asparagin und andere Aminosäuren im Apfel verschwinden.

Nach Paech (1939) spiegelt sich der jeweilige Lebenszustand der Zellen am raschesten und sichersten in der Atmung.

Schon bei Beginn einer rein physiologischen Krankheit wie der Fleischbräune macht sich nach Kidd und West (1925/26) ein Atmungsanstieg bemerkbar.

In den folgenden Versuchen wird die Kohlensäureabgabe von gesunden und kranken Äpfeln ermittelt.

Bei der Kohlensäureproduktion infizierter Früchte ist zu berücksichtigen, daß auch die Pilze atmen. Die ausgeatmete Kohlensäuremenge eines kranken Apfels ist demnach als Summe der Pilzatmung und der erhöhten Gewebeatmung zu betrachten. Um die Atmungsgröße der beiden Komponenten zu ermitteln, führte ich die Versuche in drei Serien durch. So wurde gleichzeitig die Kohlensäureabgabe

1. der gesunden Apfelhälfte,
2. der mit einem Pilz infizierten Apfelhälfte und
3. des Pilzes in Nährlösung gemessen.

Bei den folgenden Atmungsversuchen wurde die Sauerstoffaufnahme nicht berücksichtigt. — Anfänglich bestimmte ich die CO_2 -Mengen auf gravimetrischem, später auch auf titrimetrischem Wege, da mich die erste Methode nicht ganz befriedigte.

Für die Atmungsversuche verwendete ich nur ganz einwandfreie Glockenäpfel von mittlerer Größe. Vor den Versuchen wurden die Früchte gelagert und behandelt, wie schon auf Seite 174 berichtet worden ist. — Als Fäulniserreger benützte ich wiederum *Monilia fructigena*.

Die Kohlensäuremessungen wurden bei einer Temperatur von $19,5^\circ\text{C}$ bis 21°C ausgeführt.

Gravimetrische Methode: Preßluft wurde kohlensäurefrei gemacht, durch ein Dreigabelgasrohr in drei Linien geteilt und in ständigem Strom über die Versuchsstoffe geleitet (1. Apfelhälfte + Pilz, 2. Nährlösung + Pilz, 3. gesunde Apfelhälfte). Nun folgte je ein Dreieghahn, der ermöglichte, die Luft außerhalb der Meßzeiten ins Freie entweichen zu lassen. Die getrocknete Atmungsluft wurde meist täglich während 3 oder 4 Stunden zur Absorption der Kohlensäure durch Natronkalk und Phosphorpentoxyd geleitet. Den Absorptionsröhren folgten je ein U-Rohr mit Kalziumchlorid, eine Gaswaschflasche mit Barytlauge und ein Natronkalkröhren. Damit wollte ich einerseits kontrollieren, ob der Natronkalk im Analysenrohr die Atmungskohlensäure vollständig absorbiert hatte und anderseits verhindern, daß von hinten weder Kohlensäure noch Feuchtigkeit zum Phosphorpentoxyd bzw. Natronkalk vordrang. Den Abschluß der Apparatur bildete je Linie je eine Mariottesche Flasche mit 10 l Wasser. Dadurch wurde eine Saugwirkung verursacht, und zugleich konnte eine Kontrolle über den Luftstrom je Zeiteinheit geführt werden. Je Linie wurde der Luftstrom auf 2 Liter je Stunde eingestellt.

Die Apfelhälften waren auf Glasplatten in Rezipienten eingeschlossen. Diese bestanden aus 2 ineinandergeschobenen Glasklocken mit endständigem Rohransatz (Abb. 17). Der Innendurchmesser betrug 6,4 cm, die Länge bis zum Rohransatz 10–12 cm und der Inhalt etwa 300 ccm. Mit einem Wachs-Paraffin-Gemisch wurden die Zwischenräume luftdicht abgeschlossen. Die Nährlösung (100 ccm) mit dem Pilz befand sich in einer Absaugflasche.

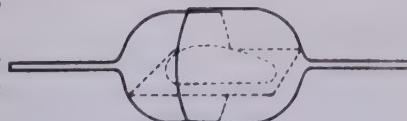


Abb. 17
Versuchsgefäß mit Apfelhälfte

Titrimetrische Methode: Der erste Teil dieser Apparatur war gleich wie bei der gravimetrischen Methode. — Die Atmungskohlensäure wurde hier durch 80 cem n 50 Ba(OH)₂ in gebogenen Röhren von 75 cm Länge und 1,5 cm Innendurchmesser absorbiert. Durch ein gebogenes Röhrchen, dessen Ende ausgezogen und stark verschmälert war, wurde die kohlensäurehaltige Luft in die Barytlauge eingeleitet. Die eintretende Luft wurde gegen die Wand des Absorptionsgefäßes gepreßt und in kleine Bläschen aufgeteilt, die dann langsam durch die Lauge rieselten. — Der Rest der Apparatur war wieder gleich wie bei der ersten Methode. Je Linie und Stunde war der Luftstrom auf 2 Liter eingestellt. Die Atmungskohlensäure wurde meist täglich während 2 Stunden gemessen.

Nach dem Absinken des Bariumkarbonates titrierte ich aliquote Teile der überschüssigen Lauge mit n 50 HCl aus einer automatischen Pipette zurück und bestimmte auf diese Weise die Atmungskohlensäure. Als Indikator diente 1 prozent. Phenolphthaleinlösung.

Versuchsgang: Die verwendeten Glockenäpfel wurden bei 0°C gelagert und vor dem Versuch 3—5 Tage bei 20°C gehalten. Nach der üblichen Reinigung halbierte ich sie und stellte ihre Gewichte fest. Um die Atmung der Schnittflächen zu verhindern, wurden diese mit einem Paraffin-Wachs-Gemisch abgeschlossen, die eine Hälfte oben steril verletzt und die andere analog mit einem Myzelstückchen einer *Monilia fructigena*-Reinkultur infiziert. Gleichzeitig impfte ich die 100 cem Nährösung in der Saugflasche mit einem entsprechenden Myzelflöckchen. Hierauf wurden die Apfelhälften in ihre Gefäße gelegt und die Zwischenräume der ineinandergeschobenen Glassglockenwände mit einem Wachs-Paraffin-Gemisch luftdicht abgeschlossen. Der Versuch begann, nachdem die Rezipienten und die Saugflasche in die Apparatur eingeschaltet worden waren. Wie schon früher erwähnt, waren die Dreiweghähne nach den Versuchsgefäßen außerhalb der Meßzeiten so eingestellt, daß die Atmungsluft durch Wasser ins Freie entweichen konnte. Durch Zählen der austretenden Luftblasen je Zeiteinheit war es möglich den Luftstrom zu kontrollieren; denn es war wesentlich, daß die Versuchsobjekte dauernd einem möglichst gleichmäßigen Luftstrom ausgesetzt waren. Nach Versuchabschluß wurde der Zucker der beiden Apfelhälften nach der Methode von Bertrand bestimmt.

2. Eigene Versuche

a) Der Einfluß von *Monilia fructigena* Pers. auf die Kohlensäureabgabe bei lebendem Apfelgewebe

Die Ergebnisse unserer Kohlensäuremessungen sollen an folgenden drei Beispielen besprochen werden:

Versuch A

Ein Glockenapfel von gelblichgrüner Farbe wurde im Dezember vom Lager genommen. — Zu Beginn des Versuches hatte die gesunde Apfelhälfte ein Gewicht von 46,9 g, die infizierte Hälfte wog 51,8 g. Die für den Pilz verwendete Nährösung hatte folgende Zusammensetzung:

KH_2PO_4	1.5%
MgSO_4	0.5%
KNO_3	0.5%

Asparagin	0.5%
Eisenchlorid	Spur
Glukose	2%
Traubensaft	10%

Die Nährlösung hatte einen Zuckergehalt von 3,66% (3,6% Monosaccharide + 0,06% Disaccharide).

Beobachtungen während des Versuches: Der Pilz entwickelte sich auf der Apfelhälfte sehr rasch. Schon nach 101 Stunden hatte die Fäulnisstelle einen Durchmesser von 3 cm. Es erschienen die ersten Konidienpolster. Die Myzeldecke auf der Nährlösung hatte zu dieser Zeit einen Durchmesser von etwa 3 cm. — Bereits nach 141 Stunden erschien die infizierte Apfelhälfte ganz braun und war reichlich mit Sporenpolstern besetzt. Die Myzeldecke hatte sich über die ganze Oberfläche ausgedehnt. — Bei Versuchsabschluß wies die gesunde Apfelhälfte keinerlei Infektionen auf.

In Abb. 18 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

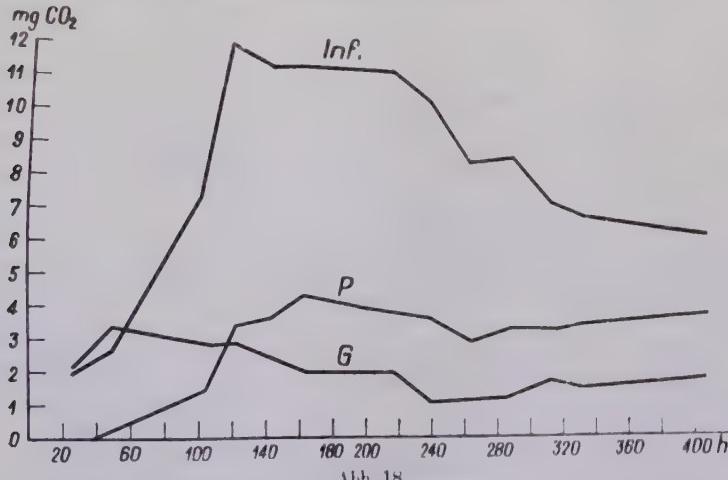


Abb. 18

Verschiebung der Atmungsintensität bei einem Glockenapfel im Verlaufe der Infektion mit *Monilia fructigena*. — Kurve Inf.: Infiziertes Apfelmuttergewebe; Kurve G: Gesundes Apfelmuttergewebe; Kurve P: Pilz in Nährlösung mit 2% Glukose und 10% Traubensaft. — Abszisse: Versuchsdauer in Stunden. — Ordinate: Milligramm CO_2 je Stunde und 100 g Frischgewicht

Die Tabelle 2 gibt Auskunft über den Zuckergehalt in den Apfelhälften und im Kulturfiltrat nach dem Versuch.

Tabelle 2 (Versuch A)

Objekt	Myzeltrockengewicht g	Bei Abschluß des Versuches nach 410 Stunden		
		Monosaccharide als Glukose bestimmt %	Disaccharide (Saccharose) %	Gesamtzucker %
Infizierte Apfelhälfte . . .		1.5	0	1.5
Nährlösung + Pilz . . .	1.250	1.0	0	1
Gesunde Apfelhälfte . . .		5.6	2.2	7.8

Der durchschnittliche Zuckergehalt in Glockenäpfeln, gelagert bei 0°C beträgt im Dezember nach Angabe der Eidg. Versuchsanstalt in Wädenswil 10,4% (5,1% Monos. + 5,3% Dis.).

Versuch B

Vor dem Versuche hatte die gesunde Apfelhälfte ein Gewicht von 54,5 g, die infizierte Hälfte wog 51,5 g. Der Nährösung wurde kein Traubensaft zugesetzt. Der Versuch kam im April zur Ausführung.

Beobachtungen während des Versuches: Nach 95 Stunden hatte die *Monilia*-Infektionsstelle auf der Apfelhälfte einen Durchmesser von

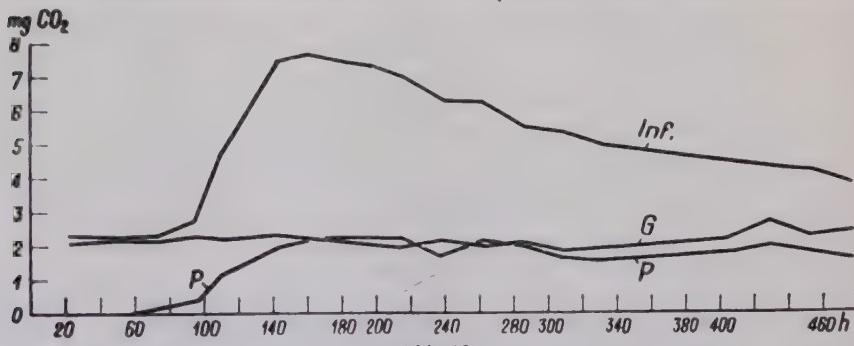


Abb. 19

Verschiebung der Atmungsintensität bei einem Glockenapfel im Verlaufe der Infektion mit *Monilia fructigena*. — Kurve Inf.: Apfelgewebe, infiziert mit *Monilia fructigena*. Kurve G: Gesundes Apfelgewebe. Kurve P: Pilz in Nährösung mit 2% Glukose. — Abszisse: Versuchsdauer in Stunden. Ordinate: Milligramm CO_2 je Stunde und 100 g Frischgewicht

etwa 1,5 cm und nach 143 Stunden einen solchen von 4—5 cm. Zu dieser Zeit wurden reichlich Sporenpolster gebildet. Nach 198 Stunden erschien die ganze Apfelhälfte braun, und die Oberfläche war stark mit Sporenpolstern besetzt.

Bei Abschluß des Versuches nach 478 Stunden wies die ursprünglich gesunde Apfelhälfte auf der Stielseite eine geringe *Penicillium*-Infektion auf, die wahrscheinlich gegen Ende des Versuches ein leichtes Steigen der Kohlensäureproduktion verursachte. — Der Verlauf der Kohlensäurekurven ist in Abb. 19 dargestellt. Über den Zuckergehalt in den Apfelhälften und im Kulturfiltrat bei Abschluß des Versuches orientiert Tabelle 3.

Tabelle 3 (Versuch B)

Objekt	Bei Abschluß des Versuches nach 478 Stunden			
	Myzeltrockengewicht g	Monosaccharide als Glukose bestimmt %	Disaccharide (Saccharose) %	Gesamtzucker %
Infizierte Apfelhälfte . . .		3,9	0	3,9
Nährösung + Pilz . . .	1,024	0,84	0	0,84
Gesunde Apfelhälfte . . .		6,15	1,5	7,65

Der durchschnittliche Zuckergehalt in Glockenäpfeln, gelagert bei 4°C beträgt nach Angabe der Eidg. Versuchsanstalt in Wädenswil im April 10,5% (6,5% Monosaccharide + 4,0% Disaccharide).

Versuch C

Der verwendete gelblich gefärbte Glockenapfel wurde im Dezember vom Lager genommen. — Die beiden Fruchthälften wiesen folgende Gewichte auf: Gesunde Hälfte 52,0 g, infizierte Hälfte 56,2 g. — Der Nährösung waren 2% Glukose und 10% Traubensaft zugegeben. Sie hatte einen Gesamtzuckergehalt von 3,66%.

Beobachtungen während des Versuches: 97 Stunden nach Beginn des Versuches hatte die *Monilia*-Infektion auf der Apfelschale einen Durchmesser von etwa 2 cm und nach 116 Stunden einen solchen von 3—4 cm. Es waren noch keine Sporenpolster vorhanden. Der Durchmesser der Myzeldecke auf der Nährösung betrug ebenfalls 3—4 cm. — Erst nach 141 Stunden wurden auf der infizierten Apfelschale die ersten Konidienpolster gebildet. Die Myzeldecke auf der Nährösung nahm etwa $\frac{2}{3}$ der Oberfläche ein. — Nach 158 Stunden waren etwa $\frac{4}{5}$ der infizierten Apfelschale braun. Der Pilz fruktifizierte reichlich. Die Myzeldecke hatte sich weiter ausgedehnt, überdeckte aber noch nicht die ganze Oberfläche. — 213 Stunden nach der Infektion war die ganze Apfelschale braun. Das Myzel überdeckte nun vollständig die Oberfläche der Nährösung. Auf der gesunden Apfelschale bewirkte eine Spontaninfektion einen CO₂-Anstieg. Dieser Pilz entwickelte sich rasch und hatte schon bei 385 Stunden nach Versuchsbeginn die ganze Apfelschale ergriffen. Auch die Kohlensäureproduktion nahm entsprechend zu und erreichte schon nach 308 Stunden ihr Maximum. — Die Kohlensäurekurven sind in Abb. 20 dargestellt.

Der vorläufig noch nicht näher bezeichnete Pilz, der die nachträgliche Spontaninfektion verursacht hatte, bewirkte eine Art Schwarzfäule. Die Apfelloberfläche wurde glasigbraunschwarz. Gegen Ende des Versuches bildete sich ein ganz schwacher, grauschwarzer Myzelanflug ohne Sporen.

In Tabelle 4 ist der Zuckergehalt der Apfelschalen und des Kulturfiltrates bei Abschluß des Versuches angegeben.

Tabelle 4 (Versuch C)

Objekt	Myzel-trockengewicht g	Bei Abschluß des Versuches nach 405 Stunden		
		Monosaccharide als Glukose bestimmt %	Disaccharide (Saccharose) %	Gesamtzucker %
Infizierte Apfelschale . .		5,3	0	5,3
Nährösung + Pilz . .	1,025	1,2	0,03	1,23
Gesunde Apfelschale . .		6,5	0,1	6,6

b) Kohlensäuremessungen an totem (tiefgefrorenem) Apfelmischgewebe

Um über die Atmung des Pilzes im Apfelmischgewebe Angaben zu erhalten, führte ich auch Kohlensäuremessungen an toten Apfelschalen durch. Dazu

mußten diese vorher unter derartige Verhältnisse gesetzt werden, daß nicht nur das Protoplasma abgetötet, sondern auch die Enzymtätigkeit weitgehend ausgeschaltet werden konnte. Ich versuchte dies durch langandauernde Tieftkühlung zu erreichen.

Versuch D

Die Äpfel wurden wie üblich gereinigt, halbiert, die Schnittflächen mit einem Wachs-Paraffin-Gemisch abgeschlossen, in eine sterile Schale gelegt und für ein Jahr in den Tiefkühlraum von -20°C gebracht. -- Nach dieser

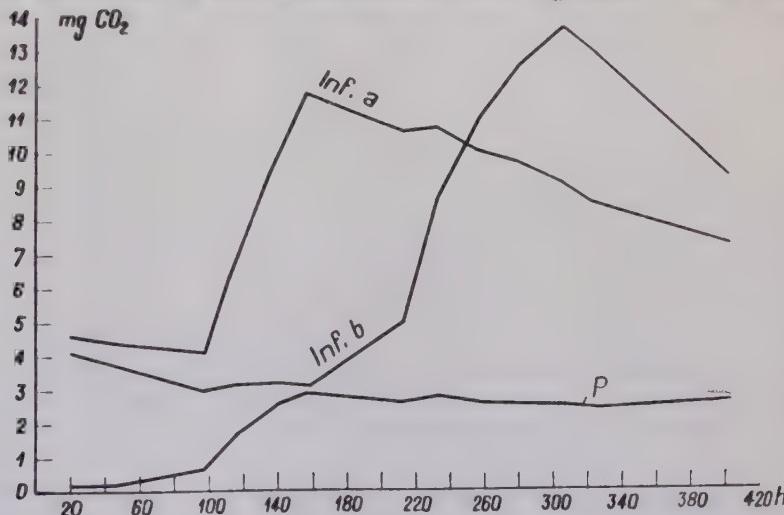


Abb. 20

Verschiebung der Atmungsintensität bei einem Glockenapfel im Verlaufe der Infektion. — Kurve Inf. a: Apfelpewe, infiziert mit *Monilia fructigena*. Kurve Inf. b: Apfelpewe mit nachträglicher Spontaninfektion. Kurve P: Pilz in Nährösung mit 2% Glukose und 10% Traubensaft. — Abszisse: Versuchsdauer in Stunden. Ordinate: Milligramm CO₂ je Stunde und 100 g Frischgewicht

Zeit hielt ich die Apfelhälften 2 Tage bei -10° und anschließend 6 Tage im Kühlenschrank bei $1-3^{\circ}\text{C}$. 2 Tage vor Versuchsbeginn nahm ich sie ins Versuchszimmer, wog sie und erneuerte die Wachs-Paraffin-Schicht der Schnittflächen. Abgesehen von der bräunlichen Farbe waren die Apfelhälften in der Form noch recht gut erhalten. Eine Desinfektion der Versuchsobjekte unmittelbar vor den Messungen schien jedoch etwas riskiert und wurde deshalb unterlassen. — Die infizierte Glockenapfelhälfte wog 49,5 g, die andere 56,5 g.

Bei diesem Versuch wurde *Monilia fructigena* nicht mehr auf einer synthetischen Nährösung, sondern auf 100 ccm mit Pektasin geschöntem und pasteurisiertem Apfelsaft gezogen.

Wie bei den früheren Versuchen wurde die eine Apfelhälfte mit *Monilia fructigena* lokal infiziert, die andere entsprechend nur verletzt. Den

Apfelsaft in der Absaugflasche impfte ich mit einem Myzelstückchen der gleichen Pilzkultur.

Beobachtungen während des Versuches: Die Entwicklung von *Monilia fructigena* im toten Apfelgewebe schien nach außerlichen Beobachtungen während der ersten 4 Tage eher etwas schwach zu sein. Auf dem Apfelsaft hatte die Myzeldecke nach 96 Stunden schätzungsweise einen Durchmesser von 4 cm. — Leider erschienen nach 137 Stunden auf beiden Apfelhälften vereinzelt geringe *Penicillium*-Räschchen. *Monilia fructigena* hatte aber zu dieser Zeit das Apfelgewebe schon gut zur Hälfte ergriffen. Nur ganz vereinzelt wurden Konidienpolster gebildet. — Die Myzeldecke in der Saugflasche hatte sich zu dieser Zeit über die ganze Saftoberfläche ausgedehnt. Der Pilz fruktifizierte hier stark.

Nach 172 Stunden schien *Monilia fructigena* die ganze Apfelhälfte durchwuchert zu haben. Wenige Sporenpolster waren über die ganze Oberfläche verteilt. Die Sekundärinfektionen traten hier nicht stark in den Vordergrund. Bis zum Ende des Versuches waren bei dieser Apfelhälfte äußerlich keine wesentlichen Veränderungen mehr festzustellen. Auf der anderen Apfelhälfte entwickelten sich dagegen die Spontaninfektionen immer mehr und ergriffen nach und nach die ganze Fruchthälfte.

Während der ersten 192 Stunden bildete *Monilia fructigena* auf dem Apfelsaft 4 Konidienpolsterringe, die sich später nicht mehr vermehrten.

Die Kohlensäurereproduktion der einzelnen Versuchsstoffe ist in den Kurven der Abb. 21 dargestellt. Über den Zuckergehalt in den Apfelhälften und im Kulturfiltrat bei Abschluß des Versuches orientiert Tabelle 5.

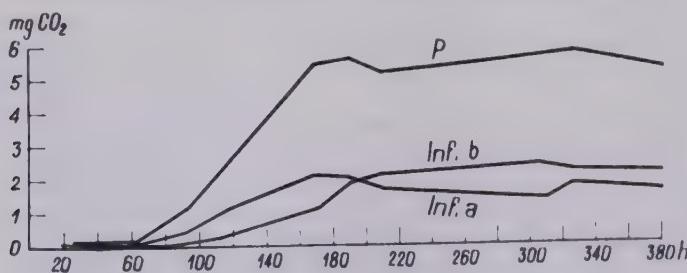


Abb. 21

Kohlensäureabgabe von *Monilia fructigena* im Verlaufe ihrer Entwicklung im toten (tiefgekühlten) Apfelgewebe und im Apfelsaft. — Kurve Inf. a: Im toten, infizierten Apfelgewebe. Kurve Inf. b: Im toten Apfelgewebe mit nachträglicher Spontaninfektion. Kurve P: Im Apfelsaft. — Abszisse: Versuchsdauer in Stunden. Ordinate: Milligramm CO₂ je Stunde und 100 g Frischgewicht

e) Besprechung der Ergebnisse

Die Kohlensäureabgabe von gesunden Apfelhälften bei 20° C beträgt bei den erwähnten Beispielen je Stunde und 100 g Frischgewicht z. B. 4 Tage nach Versuchsbeginn 2,3–3 mg und wird im Verlaufe der Versuche meist etwas geringer. — Ganz anders verhalten sich die mit *Monilia fructigena* infizierten Apfelhälften. Wenn der Durchmesser der Fäulnisstelle 1–2 cm

Tabelle 5 (Versuch D)

Objekt	Bei Abschluß des Versuches nach 383 Stunden			
	Myzel-trockengewicht g	Monosaccharide als Glukose bestimmt %	Disaccharide (Saccharose) %	Gesamtzucker %
Tiefgekühlte infizierte Apfelhälfte		8,45	0	8,45
Apfelsaft + Pilz	2,870	7,85	0,07	7,92
Tiefgekühlte nicht infizierte Apfelhälfte		8,1	0,15	8,55

Der Gesamtzucker des unbeimpften Apfelsaftes beträgt 11,32 % (6,73 % Monosaccharide + 4,59 % Disaccharide).

Der Zuckergehalt in tiefgekühlten, nicht infizierten Äpfeln wurde nicht bestimmt.

beträgt, was meistens nach 2—4 Tagen der Fall ist, beginnt ein sehr starker Atmungsanstieg. Er erreicht seinen Höhepunkt 5—7 Tage nach der Infektion, nachdem der Befallsherd schätzungsweise einen Durchmesser von 5—6 cm besitzt und der Parasit das Apfelgewebe noch nicht ganz durchwuchert zu haben scheint. Zu dieser Zeit ist die CO_2 -Abgabe 4—6 mal größer als diejenige des gesunden Apfelgewebes. Nach Erreichen des höchsten Wertes sinkt die CO_2 -Kurve im Vergleich zum steilen Anstieg nur langsam ab. Nach 16 Tagen ist die Kohlensäureproduktion der infizierten Hälfte meist noch 2—3 mal höher als diejenige des gesunden Apfelgewebes.

Bei Kartoffelknollen, die mit *Bacillus atrosepticus* v. Hall infiziert sind, nimmt die Atmung im ersten Teil, d. h. von Beginn der Infektion bis zum Höhepunkt einen ganz ähnlichen Verlauf, doch fällt sie nachher bald, vermutlich nach dem Tode der Wirtszellen, rasch gegen den Nullpunkt ab (Eglits 1933).

Vergleicht man die CO_2 -Kurve des infizierten Apfelgewebes mit derjenigen des Pilzes in der Nährlösung, so ist eine weitgehende Parallelität festzustellen. Man hat den Eindruck, daß die Verschiebung der Atmungsintensität im infizierten Apfel wirklich durch den Pilz bestimmt werde. — Trotzdem bei den Atmungsversuchen die Veränderungen nicht nur lokal, sondern von der ganzen Apfelhälfte gemessen wurden, besteht doch, wie zu erwarten war, zwischen den Temperatur- und Kohlensäurekurven eine gewisse Übereinstimmung.

Die Versuche zeigen, daß durch die Infektion mit *Monilia fructigena* bei Äpfeln sowohl die CO_2 -Abgabe wie auch die Wärmebildung wesentlich gesteigert werden. Man kann sich nun fragen, ob die Mehrausscheidung an Kohlensäure im infizierten Apfelgewebe auf die Atmung des Myzels oder auf die durch Toxine und andere Stoffe stimulierte Lebenstätigkeit der Wirtszellen zurückzuführen sei. Vergleichen wir den Verlauf der Kohlensäurekurven mit dem Fortschreiten der Infektion, so kommt man zur Auffassung, daß der Pilz das Apfelgewebe während den ersten 5—7 Tagen zur erhöhten Atmung stimuliert und selbst nur einen kleineren Beitrag leistet. — Nach dieser Zeit scheint sich das Verhältnis langsam zugunsten des Pilzes zu ver-

schieben; denn dieser entwickelt sich immer mehr, während die Zahl der lebenden und noch „kämpfenden“ Wirtszellen immer kleiner wird. Nach einer gewissen Zeit wird sehr wahrscheinlich die Kohlensäuremenge nur noch durch den Pilz geliefert.

Was die Kohlensäureproduktion von moniliafaulen Birnen anbetrifft, mag noch interessieren, daß Schneider-Orelli (1911) an solchen je Stunde und 100 g Frischgewicht 8 mal mehr gemessen hat als an gesunden. Weimer und Harter (1921) stellten fest, daß halbe Bataten, geimpft mit *Rhizopus tritici* Saito, 6,3—7,8 mal mehr CO_2 ausschieden als gesunde.

Während meiner Versuche machte ich immer wieder die Beobachtung, daß der steile Atmungsanstieg in die Zeit der ersten Konidienbildung fiel. Diese Tatsache ist nicht neu, denn auch schon Maresquelle (1928) fand, daß bei Pflanzen, die von Rostpilzen befallen waren, die Sauerstoffaufnahme zur Zeit der Sporenbildung am größten war. — Auch aus einer Arbeit von C. Sempio (1946) über Atmungsversuche bei Weizenpflanzen, infiziert mit Konidien von *Erysiphe graminis* DC., geht hervor, daß die Atmung der kranken Pflanzen schon 2 Tage nach der Infektion leicht höher ist als diejenige der gesunden, um nachher stark anzusteigen. Das Atmungsmaximum kann den vierfachen Wert der Kohlensäureabgabe der gesunden Pflanzen betragen und wird zu der Zeit erreicht, da die ersten Konidienträger gebildet werden.

Auf der tiefgekühlten Fruchthälften entwickelte sich *Moullia fructigena* bei 20° C nicht besser und bildete weniger Konidienpolster als auf der lebenden. Der Atmungsanstieg war bei diesem Beispiel schwach und erreichte den Höhepunkt nach 7 Tagen mit 2,1 mg CO_2 je Stunde und 100 g Frischgewicht. Die CO_2 -Produktion war zu dieser Zeit also etwa fünfmal geringer als in lebenden, infizierten Apfelhälften. — Durch dieses Beispiel wird die oben geäußerte Ansicht bestätigt, wonach der steile Atmungsanstieg in moniliakrankem Apfelgewebe nicht in erster Linie durch die Kohlensäureausscheidung des Pilzes, sondern zum großen Teil durch die erhöhte CO_2 -Produktion des Fruchtgewebes bewirkt wird.

Es ist ohne weiteres verständlich, daß eine reichere Nährlösung, z. B. bei Zugabe von Traubensaft, höhere Myzelgewichte und eine intensivere Atmung bedingt. Ein Vergleich der Myzelgewichte in den Tabellen 2 und 4 zeigt die fördernde Wirkung dieses Zusatzes gegenüber der synthetischen Nährlösung (Tabelle 3).

Bedeutend höhere Werte für das Myzelgewicht und für die Intensität der CO_2 -Abgabe wurden im reinem Apfelsaft erreicht. Nach etwas mehr als 7 Tagen betrug diese 5,6 mg CO_2 je Stunde. Zur Zeit des Atmungsmaximums hatte die Myzeldecke meist die ganze Nährlösungsoberfläche bedeckt. Trotzdem die Konidienbildung weiter ging, steigerte sich die CO_2 -Produktion nicht mehr; sie blieb während einiger Tage gleich, d. h. vermutlich so lange, bis die Vorräte an Kohlenstoffverbindungen erschöpft waren.

III. Kapitel

Zuckerabbau durch *Monilia fructigena* Pers. im Apfelgewebe und im Apfelsaft

In einem ersten Versuch wollte ich feststellen, ob zwischen dem Zuckerverbrauch in kranken Apfelhälften und der Kohlensäureabgabe eine gewisse Parallelität besteht. Vorgängig sei erwähnt, welche Stoffe dem Pilz im Apfel zur Verfügung stehen. Wehmer (1911) gibt als allgemeine Mittelwerte für Fruchtfleisch reifer Apfel verschiedener Sorten folgende Zahlen in Prozent: 84 Wasser, 8 Invertzucker, 4 Saccharose, keine Stärke, 0,9 Zellulose, 0,5 Peatosane, 0,1 Lignin, 0,6 freie Säure (als Apfelsäure berechnet), 0,2 gebundene Säure (desgl.), 0,4 Pektinstoffe, 0,3 Rohrfett, 0,1 Eiweiß, 0,3 Gerbstoff u. a., 0,3 Asche.

Versuchsgang: Glockenäpfel vom ungefähr gleicher Größe und Farbe wurden aus dem 0° C-Lagerraum genommen und ins Versuchszimmer

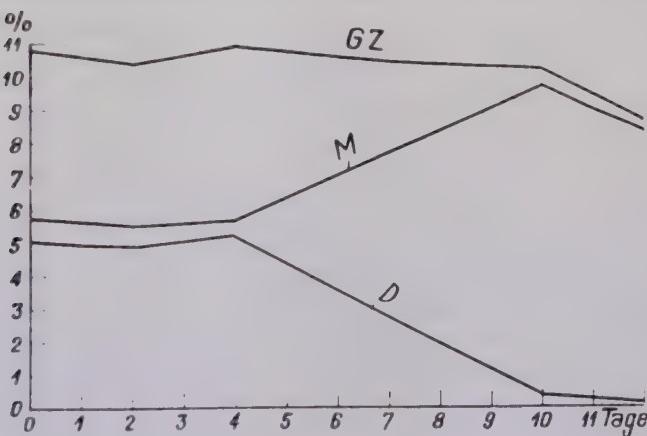


Abb. 22

Der Einfluß von *Monilia fructigena* auf den Zuckerabbau in Glockenäpfeln. — Kurve GZ: Gesamtzucker, Kurve D: Disaccharide (Rohrzucker). Kurve M: Monosaccharide als Glukose bestimmt. — Abszisse: Versuchsdauer in Tagen. Ordinate: Durchschnittlicher Zuckergehalt

die Ergebnisse orientiert Tabelle 6. — In Abb. 22 sind die Durchschnittswerte der Zuckerbestimmungen graphisch dargestellt.

Da naturgemäß der Zuckergehalt von Apfel zu Apfel etwas schwankt und sich auch die Infektionen auf den Fruchthälften nicht genau gleich entwickeln, möchte ich aus den Ergebnissen keine endgültigen Schlüsse ziehen. Die Resultate zeigen aber doch, daß der Pilz 4 Tage nach der Infektion den Rohrzucker verhältnismäßig rasch invertiert, ohne selbst wesentliche Mengen Invertzucker zu verbrauchen. Der Rohrzucker sinkt vom 4. bis zum 10. Tag auf 0,2 %, während die reduzierenden Zucker bis zum 10. Tage bis auf

(20° C) gebracht. Nach gründlicher Reinigung halbierte ich die Äpfel, legte sie in Feuchtschalen und infizierte sie mit je einem Myzelstückchen von *Monilia fructigena*. Im Anschluß daran wurde alle 1 bis 3 Tage der Zuckergehalt von je 2 Hälften nach der Methode von Bertrand bestimmt. Über

9,75% ansteigen. Der Zuckerspiegel sinkt bis dahin nicht stark, trotzdem zu dieser Zeit die Pilzinfektion die Apfelsäfte ganz ergriffen hat. Erst am 12. Tag ist eine deutliche Zuckerabnahme festzustellen. Nach diesem Versuch scheint zwischen dem Zuckerverbrauch und dem starken CO_2 -Anstieg, wie er jeweils zwischen dem 5. und 7. Tag während der Kohlensäuremessungen zu verzeichnen war, kein sichtbarer Zusammenhang zu bestehen. Vielleicht war diese Methode zu grob; es ist aber auch möglich, daß anfänglich nicht nur der Zucker, sondern noch andere Kohlenstoffverbindungen (z. B. organische Säuren) veratmet wurden.

Tabelle 6

Zuckerabbau im Apfelgewebe, infiziert mit *Monilia fructigena* Pers. (Durchschnittswerte aus 2 Bestimmungen)

Tage nach der Infektion	Monosaccharide als Glukose bestimmt	Disaccharide (Saccharose)	Gesamtzucker			
				%	%	%
0.	5,75	5,05	10,8			
2.	5,5	4,9	10,4			
4.	5,65	5,25	10,9			
7.	7,65	2,75	10,4			
10.	9,75	0,45	10,2			
(Die Infektion hat sich über die ganze Apfelsäfte ausgebreitet)						
12. (Apfelsäfte braun und mit Sporenpolstern besetzt)	8,45	0,2	8,65			

Die Überproduktion von Enzymen ist auch bei anderen Pilzen eine häufige Erscheinung. So invertiert z. B. auch der Grauschimmel, *Sclerotinia cinerea* Schroet. in Pfirsichen die Saccharose bis fast zum völligen Verschwinden, während die reduzierenden Zucker ansteigen (Hawkins, L. A., 1915).

Monilia fructigena soll nach Ansicht von Behrens nicht imstande sein, echte Zellulose zu lösen. Es gelang auch nicht, diesen Pilz auf Rübenpektin zu ziehen, trotzdem Pepton als N-Quelle geboten wurde. Man schloß hieraus und aus dem Verhalten des Pilzes auf faulenden Früchten, daß dieser nicht imstande sei, die Mittellamellen zu lösen, sondern rein mechanisch zwischen die Zellen eindringt und dabei die Mittellamellen verdränge oder spalte. — Bei faulenden Äpfeln und Birnen stellte man schon früher fest, daß der Rohrzucker bald vollständig und der Glukosegehalt erst später stärker abnimmt. Dagegen wird durch *Botrytis cinerea* bei edelfaulen Trauben die Säure rascher verbraucht als der Zucker (Müller-Thurgau 1905).

Nach vorläufigen Versuchen zeigte *Monilia fructigena* in synthetischer Nährlösung mit reinem Pektin oder Filterpapier als C-Quelle ein gewisses Wachstum. Bedeutend besser ist die Entwicklung in synthetischer Nährlösung mit Stärkezusatz. Es scheint deshalb nicht ausgeschlossen, daß neben Zucker und organischen Säuren auch hochmolekulare Kohlehydrate abgebaut und veratmet werden.

Im folgenden Versuch wurde der Zuckergehalt im Apfelsaft unter dem Einfluß von *Monilia fructigena* verfolgt. Ich verwendete 200-cem-Erlenmeyerkolben mit 30 cem geschöntem und pasteurisiertem Glockenapfelsaft. Wie alle bisherigen Versuche wurde auch dieser bei 20° C durchgeführt.

Zu Beginn impfte ich gleichzeitig 6×4 Kolben mit einem Myzelstückchen von *Monilia fructigena*. In Abständen von 2-4 Tagen wurde der Zucker im Filtrat von je 4 Kulturen bestimmt. Die Myzelien wurden einzeln gewaschen, bei 104° C getrocknet und gewogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 und Abb. 23 dargestellt.



Abb. 23

Zunahme des Myzelgewichtes von *Monilia fructigena* und Abnahme des Zuckergehaltes im Apfelsaft. — Kurve My: Myzeltrockengewicht. Kurve GZ: Gesamtzucker. Kurve D: Disaccharide. Kurve M: Monosaccharide als Glukose bestimmt. — Abszisse: Versuchsdauer in Tagen. Ordinate: Milligramm Myzeltrockengewicht bzw. Zuckergehalt in Prozent im Kulturfiltrat

Tabelle 7
Zunahme des Myzelgewichtes von *Monilia fructigena* Pers. und Abnahme des Zuckergehaltes im Apfelsaft

Tage nach der Impfung	Im Kulturfiltrat				Myzeltrocken- gewicht, Mittel von 4 Myzelien in mg
	pH-Wert	Gesamtzucker %	Disaccharide (Saccharose) %	Monosaccharide als Glukose bestimmt %	
		%	%	%	
2	--	10,8	4,3	6,5	wenige mg
5	--	10,8	1,5	9,3	58
8	3,15	10,4	0,5	9,9	600
10	3,20	8,0	0,0	8,0	1053
12	3,33	6,8	0,2	6,6	1350
16	3,76	4,4	0,2	4,2	1938

Der Zuckergehalt im unbeimpften Apfelsaft betrug 11,6% (6,8% Monos., + 4,8% Dis.),
der pH-Wert 3,10

Mit Beginn des Pilzwachstums setzte auch hier wiederum die Wirkung der Invertase ein. Wie aus Abb. 23 hervorgeht, wurde sie im Überschuß gebildet. Schon nach 5 Tagen, bei einem Myzeltrockengewicht von 58 mg je Kolben, sank der Rohrzuckergehalt von 4,8% auf 1,5%, während der Gehalt an reduzierenden Zuckern von 6,8% auf 9,3% anstieg. Der Zuckerverbrauch ist verhältnismäßig gering.

Auch hier besteht zwischen dem verhältnismäßig steilen CO_2 -Anstieg, wie er bei den Atmungsmessungen (Pilz + Apfelsaft) meist zwischen dem 4. und 8. Tag festgestellt worden ist, und der Zuckeraufnahme im Apfelsaft kein sichtbarer Zusammenhang. Diese Ergebnisse weisen wiederum darauf hin, daß *Monilia fructigena* vor allem in den ersten Tagen im Apfelsaft außer Zucker noch andere Kohlenstoffverbindungen, wie z. B. Apfelsäure, verbraucht.

In einem zweiten, ausgedehnteren Versuch sollte der weitere Verlauf der Gewichtszunahme des Pilzes und des Zuckerverbrauches festgestellt werden. Es wurden wiederum 200 ccm-Erlenmeyerkolben mit je 30 ccm Glockenapfelsaft verwendet. In Abständen von 3–15 Tagen (Tabelle 8) wurden die Myzelien einzeln gewaschen, getrocknet und gewogen. Der Zuckergehalt und der pH-Wert wurden gesamthaft aus 4–5 Kulturfiltraten bestimmt. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 8 und Abb. 24 ersichtlich.

Tabelle 8
Zunahme des Myzelpgewichtes von *Monilia fructigena* Pers. und Abnahme des Zuckergehaltes im Apfelsaft

Tage nach der Impfung	pH-Wert	Gesamtzucker	Disaccharide (Saccharose)	Monosaccharide als Glukose bestimmt	Myzeltrockengewicht, Mittel von 4 Myzelen	
					%	in mg
10	3,25	10,9	0	10,9		739
13	3,34	10,2	0	10,2		973
18	3,84	7,1	0	7,1		1830
22	4,44	4,8	0	1,8		2160
27	5,19	2,7	0	2,7		2376
32	5,40	1,7	0	1,7		2479
38	5,67	0,5	0	0,5		2572
45	5,75	Spur	0	Spur		2569
60	5,30	0	0	0		2503

Der Gesamtzucker im unbeimpften Glockenapfelsaft betrug 12,1% (10,2% Monos. + 1,9% Dis.).

Auch in diesem Versuche verschwanden die Disaccharide in den ersten 10 Tagen, während die reduzierenden Zucker zunahmen. Von diesem Zeitpunkt an nahm der Zuckergehalt regelmäßig ab, während das Myzelpgewicht bis zum 38. Tage anstieg. Gegen Ende des Versuches, als der Zucker bereits restlos verbraucht war, schienen autolytische Vorgänge eingetreten zu sein, die eine leichte Abnahme des Myzelpgewichtes zur Folge hatten.

Zusammenfassung

In Äpfeln wurden die durch *Fusarium herbarum* (Cda.) Fr., *Botrytis cinerea* Pers. und *Monilia fructigena* Pers. verursachten Temperaturver-

änderungen gemessen. Mit einer elektrometrischen Methode konnte nachgewiesen werden, daß durch die Infektion im Apfelgewebe eine deutliche Temperatursteigerung verursacht wird. Sie betrug bei *Monilia fructigena* im Maximum $0,12^{\circ}\text{C}$, bezogen auf die Temperatur des gesunden Apfelgewebes.

An Chrysanthemen und Pelargonien wurden Temperaturdifferenzen zwischen Tumorgewebe, verursacht durch *Bacterium tumefaciens*, Sm. et T. und gesundem Stengelgewebe festgestellt. Bei *Chrysanthemum indicum* bestrugen diese bis $0,065^{\circ}\text{C}$, bei *Pelargonium zonale* bis $0,045^{\circ}\text{C}$.

Während die Temperatursteigerungen in infizierten Äpfeln nicht von langer Dauer waren, wiesen die Tumorgewebe noch 6 Monate nach der Infektion erhöhte Temperaturen auf.

Die Kohlensäureabgabe gesunder und infizierter Apfelhälften und von *Monilia fructigena* in Nährlösung wurde gravimetrisch und titrimetrisch

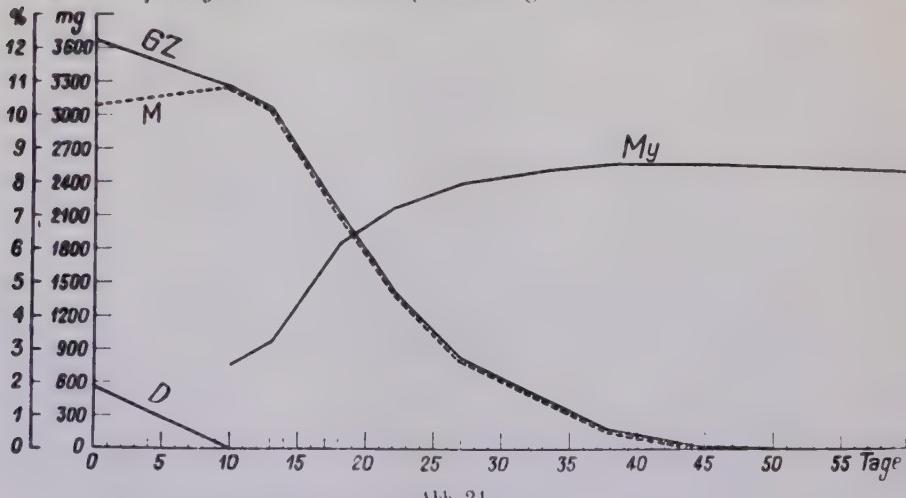


Abb. 24

Zunahme des Myzelgewichtes von *Monilia fructigena* und Abnahme des Zuckergehaltes im Apfelsaft. — Kurve My: Myzeltrockengewicht. Kurve GZ: Gesamtzucker. Kurve D: Disaccharide. Kurve M: Monosaccharide. — Abszisse: Versuchsdauer in Tagen. Ordinate: Milligramm Myzeltrockengewicht bzw. Zuckergehalt in Prozent im Kulturfiltrat

bestimmt. Durch die Infektion wurde die CO_2 -Produktion, verglichen mit derjenigen der gesunden Apfelhälfte, bis auf das Sechsfache gesteigert. Der Atmungsanstieg fiel in die Zeit der ersten Konidienbildung. Nach Erreichen des höchsten Wertes nahm die CO_2 -Produktion nur langsam ab und war nach 16 Tagen immer noch 2–3 mal höher als bei der gesunden Fruchthälfte.

Wurde ein toter (tiefgekühlter) Apfel infiziert, so war die CO_2 -Abgabe bis 5 mal geringer als im lebenden infizierten Gewebe.

Die von *Monilia fructigena* je Zeiteinheit abgegebene CO_2 -Menge erreichte im Apfelsaft 7 Tage nach der Impfung ihren höchsten Wert mit $5,6 \text{ mg CO}_2$ je Stunde.

Zuckerbestimmungen an infizierten Apfelhälften zeigten, daß *Moniella fructigena* 4 Tage nach der Impfung den Rohrzucker ziemlich rasch invertierte. Dieser verminderte sich vom 4. bis zum 10. Tag von etwa 5% auf 0,15%, während die reduzierenden Zucker von 5,5% bis auf 9,75% anstiegen. Der Zuckerspiegel sank bis dahin nicht stark, trotzdem zu dieser Zeit die Pilzinfektion die Apfelhälfte ganz ergriffen hatte.

Weiterhin wurde die durch den Pilz verursachte Zuckerabnahme im Apfelsaft bestimmt. Auch hier wurde mit Beginn des Pilzwachstums die Saccharose invertiert, und der Gehalt an reduzierenden Zuckern stieg bis zum 8. Tage an.

Literaturverzeichnis

- Eglits, M., 1933. Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Kohlensäureabgabe bei Kartoffeln. Phytopath. Zeitschr. **V**, 343-359.
- Evans, J. B. P. and M. P., 1922. Rise in Temperature of Living Plant Tissue when infected by Parasitic Fungus. Nature, **CX**, p. 480-481.
- Fischer, Ed. und Gäumann, E., 1929. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena, S. 354-357.
- Frey-Wyssling, A., 1945. Ernährung u. Stoffwechsel der Pflanzen, S. 196. Zürich, C. Gottlieb.
- Gaskill, J. O. and Gilman, J. G., 1939. Role of nitrogen in fungous thermogenous. Plant Physiology **14**, p. 31-53.
- Gäumann, E., 1930. Über Fieberzustände bei Pflanzen. Schweiz. landw. Monatshofte **12**. Bern.
- Gäumann, E., 1933. Neuere Erfahrungen auf dem Gebiete der pflanzl. Immunitätslehre. Verhandlungen d. Schweiz. Naturforschenden Gesellschaft **114**, 197-219.
- Gäumann, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. Basel.
- Gäumann, E. und Nef, U., 1947. Der Einfluß der Temperatur auf die enzymatische Leistungsfähigkeit zweier pflanzenpathogener Pilze. Ber. d. schweiz. botan. Ges. **57**, 258-271.
- Geiger, M., 1927. Studien zum Gaswechsel einer extremen Schattenpflanze (*Aspidistra*) und zur Methodik der Gaswechselversuche. Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik **67**, Heft 4, 635-701.
- Hawkins, L. A., 1915. Some effects of the brown-rot fungus upon the composition of the peach. Amer. Journ. Bot. **2**, p. 71-81. Zit. nach Fischer, Ed. und Gäumann, E., 1929.
- Hulme, A. C., 1936. Report of the Food Investigation Board, p. 128.
- Katser, A., 1933. Über die Resistenz verschiedener Apfelsorten gegenüber *Sclerotinia fructigena* (Pers.) Schröt. und ihre Beziehung zur Wasserstoffkonzentration. Phytopath. Zeitschr. **VI**, Heft 2, 177-228.
- Kidd, F. and West, C., 1921. Report of the Food Investigation Board. Zit. nach Paech, K., 1939.
- Kidd, F., 1925/26. Report of the Food Investigation Board, p. 37-41. Zit. nach Paech, K., 1939.
- Kraus, G., 1895. Zit. nach Jost, L., 1904. Pflanzenphysiologie. Jena.
- Maresquelle, M., 1928. Sur les échanges respiratoires des plantes attaquées par de Urédinaires. Comptes-Rend. hebdom. séances ac. sc. **187**, p. 247-249. Zit. nach Fischer, E. und Gäumann, E., 1929.
- Müller-Thurgau, H., 1905. Mykologie der Haltbarmachung des Obstes. Lafars Handbuch der techn. Mykologie **5**, 36-57.
- Osterwalder, A. und Kessler, H., 1934. Das Auftreten der Faulnis und nicht parasitärer Krankheiten bei der Kühl Lagerung des Obstes. Schweiz. Zeitschr. f. Obst- und Weinbau Nr. 22/23. Wadenswil.

- Paech-Leipzig, K., 1939. Pflanzenphysiologische Grundlagen der Kältelagerung von Obst und Gemüse. Forschungsdienst, Organ der deutschen Landbauwissenschaft 8, Heft 3, 233-256.
- Pfeffer, W., 1904. Pflanzenphysiologie. 2. Aufl., 2, 811-42. Leipzig.
- Richards, H. M., 1896-97. The respiration of Wounded Plants. The Evolution of heat by Wounded Plants. Annals of Botany, Zit. nach Tiessen, H., 1912.
- Schneider-Orelli, O., 1911. Versuche über Wundreiz und Wundverschluß an Pflanzenorganen. Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. und Infektionskrankh. 30, 420-429.
- Sempio, C., 1946. Métabolisme du "complexe" froment-Erysiphe graminis. Mouton international de la protection des plantes. XXe Année, No. 7-8, p. 53-69.
- Stapp, C. und Pfeil, E., 1939. Der Pflanzenkrebs und sein Erreger *Pseudomonas tumefaciens*. Zur Biochemie des Krebsgewebes. Zentralbl. f. Baktr., II. Abt., 101, 261-286.
- Tiessen, H., 1912. Über die im Pflanzengewebe nach Verletzungen auftretende Wundwärme. Beiträge zur Biologie der Pflanzen 11, 53-106.
- Tobler, Fr., 1931. Untersuchungen und Betrachtungen über Immunität und Immunisierung im Pflanzenreich. Die Naturwissenschaften 19, 413-416.
- Wehmer, C., 1911. Die Pflanzenstoffe, S. 279. Jena.

(Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Zentralanstalt Braunschweig)

Weitere Untersuchungen über die Resistenz der deutschen Kartoffelsorten gegen *Bacterium phytophthorum* Appel¹⁾

Von

C. Stapp

Der Kartoffel als dem wichtigsten vegetabilischen Nahrungsmittel des deutschen Volkes kam während des Krieges eine große Bedeutung zu; diese ist in den Jahren nach dem Zusammenbruch noch erheblich gestiegen. Erntes- und Lagerungsverluste durch Krankheiten müssen daher, sofern sie nicht gänzlich ferngehalten werden können, auf ein Mindestmaß beschränkt bleiben. Zu denjenigen Krankheiten, die alljährlich mehr oder minder starke Beeinträchtigungen der Ernte schon auf dem Felde oder zugleich auch bei der Lagerung verursachen, zählt die Schwarzeinigkeit und Knollenknallfäule. Verursacht werden beide durch dieselben Erreger, nämlich Wundparasiten der Gruppe *Bacterium phytophthorum* Appel (3).

Das Ausmaß der Schäden durch Schwarzeinigkeit auf dem Felde ist unter anderem weitgehend abhängig von der Witterung. Hohe Niederschläge, gepaart mit stärkeren Temperaturschwankungen in den Frühjahrsmonaten be-

¹⁾ Das Manuskript wurde im Frühjahr 1945 an den Verlag G. Fischer Jena gesandt zum Abdruck im Centralblatt für Bakteriologie, II. Abteilung. Da eine Veröffentlichung dort noch nicht möglich ist, erscheint die Arbeit an dieser Stelle.

Überreicht vom Verfasser



(Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Zentralanstalt Braunschweig)

Weitere Untersuchungen über die Resistenz der deutschen Kartoffelsorten gegen *Bacterium phytophthorum* Appel¹⁾

Von

C. Stapp

Der Kartoffel als dem wichtigsten vegetabilischen Nahrungsmittel des deutschen Volkes kam während des Krieges eine große Bedeutung zu; diese ist in den Jahren nach dem Zusammenbruch noch erheblich gestiegen. Ernte- und Lagerungsverluste durch Krankheiten müssen daher, sofern sie nicht gänzlich ferngehalten werden können, auf ein Mindestmaß beschränkt bleiben. Zu denjenigen Krankheiten, die alljährlich mehr oder minder starke Beeinträchtigungen der Ernte schon auf dem Felde oder zugleich auch bei der Lagerung verursachen, zählt die Schärbeinigkeit und Knollenanästose. Verursacht werden beide durch dieselben Erreger, nämlich Wundparasiten der Gruppe *Bacterium phytophthorum* Appel (3).

Das Ausmaß der Schäden durch Schwarzbeinigkeit auf dem Felde ist unter anderem weitgehend abhängig von der Witterung. Hohe Niederschläge, gepaart mit stärkeren Temperaturschwankungen in den Frühjahrsmonaten be-

¹⁾ Das Manuskript wurde im Frühjahr 1945 an den Verlag G. Fischer Jena gesandt zum Abdruck im Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abteilung. Da eine Veröffentlichung dort noch nicht möglich ist, erscheint die Arbeit an dieser Stelle.

günstigen das Auftreten der Krankheit wesentlich. Andererseits wird durch unsachgemäße Lagerung und schlechtes Verlesen des Erntegutes die Knollen-naßfäule in Mieten und Kellern erheblich gefördert. Die Widerstandsfähigkeit gegen diese Krankheiten ist bei den einzelnen Sorten unterschiedlich. Die Kenntnis dieser Verschiedenheiten ist aber Voraussetzung für alle Maßnahmen, sich gegen größere Ernteausfälle durch diese Krankheit zu schützen. Immune Sorten gibt es bisher nicht. Unter den von mir in früheren Jahren untersuchten Sorten (4,5), fanden sich nur wenige mit hoher Resistenz. Inzwischen sind eine Reihe von diesen aus der Sortenliste gestrichen und dafür neue Sorten in vermehrtem Umfang aufgenommen worden.

Während die Sortenliste des Jahres 1938 an uneingeschränkt zugelassenen Kartoffelsorten 38 und bedingt zugelassenen 21 aufwies, betrug die Zahl der uneingeschränkt zugelassenen Sorten der Sortenliste von 1943 schon wieder 50 und der bedingt zugelassenen 22 (1). In der Sortenliste 1948 sind es sogar insgesamt bereits 82 (2).

Im Jahre 1943 waren von mir auf dem Gelände der ehemaligen Biologischen Reichsanstalt in Dahlem 11 Sorten, über deren Widerstandsfähigkeit bisher nichts Sichereres ausgesagt werden konnte, auf Schwarzbeinigkeitsresistenz geprüft worden. Da sich hierbei sehr starke Resistenzunterschiede zeigten, schien es zweckmäßig, das gesamte Sortiment der Sortenliste im nächsten Jahre vergleichend auf sein Verhalten gegen *Bact. phytophthorum* zu untersuchen, wenn möglich auf klimatisch verschiedenartigem Versuchsgelände. Durch das Entgegenkommen von Herrn v. Kamiske, seinerzeit Streckenthin (Pommern) und der Landwirtschaftlichen Forschungsanstalt in Riga war hierzu 1944 die Möglichkeit gegeben¹⁾.

Die Versuche wurden daher erstens auf dem Versuchsfeld der damaligen Biologischen Reichsanstalt, Zweigstelle Braunschweig-Gliesmarode in Gliesmarode, zweitens auf einem Feldstück des K. v. Kamiske'schen Kartoffelzuchtbetriebes in Streckenthin (Pommern) und drittens auf dem Versuchsfeld in Alt-Autz (Lettland) eingeleitet.

Das Kartoffelpflanzgut — es wurde selbstverständlich nur Hochzuchtmaterial verwendet — war für die Versuche in Gliesmarode und Streckenthin im Frühjahr 1944 direkt von den Züchtern bezogen worden²⁾, dasjenige für Alt-Autz hatte die Forschungsanstalt in Riga über den damaligen Reichsnährstand schon im Herbst 1943 besorgt. Das direkt bezogene Pflanzgut in Gliesmarode war in seiner Beschaffenheit zu einem großen Teil nicht besonders gut, was möglicherweise auf die kriegsbedingte längere Transportzeit zurückgeführt werden mußte; auch das nach Streckenthin gelieferte ließ teilweise recht zu wünschen übrig.

Von jeder Sorte wurden deshalb jeweils 300 möglichst äußerlich gesund aussehende, unverletzte Knollen ausgesucht. Von diesen wurden 100 Knollen

¹⁾ Beiden Stellen sei auch an dieser Stelle nochmals für ihr großes Entgegenkommen und ihre Mübwaltung verbindlichst gedankt, ebenso Herrn Professor Dr. M. Egglitis, damals in Mitau (Lettland) und seinen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen.

²⁾ Denjenigen Züchtern, die das Pflanzgut kostenlos für den Versuch zur Verfügung gestellt hatten — es war das der größere Teil — sei auch an dieser Stelle nochmals bestens gedankt.

Tabelle 1
I. Zur Anerkennung und damit zum

Sorte	Anzahl der aufgelaufenen Knollen											
	Dahlem 1943			Gliesmarode 1944			Streckenthin 1944			Alt-Autz 1944		
	Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43
Ackersegen . . .				100	100	97	99	99	61			
Agnes . . .	100	100	53	100	100	66	100	99	58	85	91	17
Alpha . . .				100	99	87	87	85	68	78	67	50
Carnea . . .	100	100	100	100	100	88	98	100	94	99	97	51
Condor . . .				99	97	42	91	93	77	93	86	54
Direktor												
Johanssen . . .				100	97	37	95	96	26			
Edelgard . . .	100	100	66	100	100	99	98	100	95	100	93	39
Erdgold . . .				100	90	47	97	98	34			
Flava . . .							99	97	94	95	78	82
Fruhbote . . .				100	99	68	97	97	39	100	86	3
Frühgold . . .				100	100	99	74	74	65 ¹⁾	100	100	13
Frühmölle . . .				99	100	68	98	94	71	96	95	50
Goldwährung . . .							97	98	84			
Havilla . . .	98	100	46	78	95	31	98	98	72	96	94	6
Johanna . . .				100	100	99	98	99	83			
Jubel . . .				100	100	46	99	97	78	93	90	9
Juli . . .				99	97	13	81	91	46	87	75	16
Konsuragis . . .				92	90	77	89	89	48	83	76	33
Krebsfeste												
Kaiserkrone . . .				92	93	84	98	95	83	95	95	80
Lichtblick . . .				97	70	15	91	92	35	72	68	1
Mensa . . .				100	100	29	98	100	32	97	99	16
Merkur . . .							98	93	80	90	79	9
Mittelfrühe . . .				100	99	82	100	100	45			
Möwe . . .				99	100	80	94	93	72	95	95	52
Ostbote . . .				100	100	86	98	100	66	92	67	30
Parnassia . . .				100	100	95	100	99	45	95	98	80
Pepo . . .				100	100	95				98	100	65
Primula . . .	100	100	52	89	88	48	79	82	17	96	67	1
Prisca . . .				98	99	83	97	96	98	100	100	90
Robusta . . .				98	99	65	98	98	93	95	96	85
Roland I . . .				100	100	78	98	94	86	94	90	8
Rubingold . . .				100	100	85	99	100	67	89	93	32
Sabina . . .	100	100	96				97	97	76	98	94	9
Sickingen . . .				88	83	79	14	25	28 ¹⁾	99	97	93
Sieglinde . . .	100	100	38	87	86	66	84	91	72			
Stärkeragis . . .				100	100	100	99	99	87	98	98	90
Stärkereiche I .				100	100	73	100	97	66	76	86	28
Tiger . . .				100	97	66	100	99	88			
Viola . . .	100	100	88	86	87	56	97	94	27	97	65	1
Voran . . .				100	100	86	99	99	77	88	71	43
Weißes Rößl . . .				100	100	95	100	100	100	98	97	15
Wekaragis . . .				99	99	92	99	99	65	92	86	38

¹⁾ Es ist zu beachten, daß von der Sorte Frühgold in Streckenthin nur jeweils 75 statt 100 Knollen zur Verfügung standen, von der Sorte Sickingen waren es nur jeweils 50.

Handel als Saatgut zugelassene Sorten:

Anzahl der Pflanzen mit Schwarzbeinigkeitsbefall						Bewertung auf Resistenz			
Dahlem 1943			Gliesmarode 1944			Dahlem 1943	Gliesmarode 1944	Streckenthin 1944	Alt-Autz 1944
Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43				
—	—	—	—	—	7	—	++++/++++ (++)	+++ ^{a)}	+/-
—	—	—	—	29	2	++	++	++	(++)
—	—	—	—	2	2	++++	++++/++++	++++	+++
—	—	—	—	28	—	++++	++++/++++	++++	+++
—	—	—	—	—	9	—	+/-	+/-/++	+++
—	—	—	—	1	6	(++)	+	+	++
—	—	—	1	1	4	1	++++	++++	+++/++++
—	—	—	1	7	12	—	++	++	+
—	—	—	—	—	8	—	++++	+++	+/-/++
—	—	—	1	1	25	—	++	++	++/++
—	4	4	1	—	2	—	++/++	++/++	+
—	—	—	—	—	1	—	++++	++/++	+
—	—	—	1	—	13	—	+	+++	+
—	—	—	—	—	—	—	(+)	++	+
—	—	—	1	—	1	—	+++	++/++	++
—	—	—	—	—	1	—	+++	+++	+++/++++
—	—	—	—	—	4	—	+	+/-	O
—	—	—	2	1	10	—	+	+/-	+
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	11	—	+++	+++	+++/++++
—	—	—	—	—	1	—	+++	+++	+++/++++
—	—	—	—	—	17	—	++/++	++/++	++
—	—	—	—	—	2	34	+++	++/++	++/++
—	1	1	3	—	2	—	+++	++/++	++/++
—	1	1	1	15	—	—	(+)	+	O
—	1	1	—	14	—	—	++/++	++++	++++
—	—	—	—	—	—	—	+++	++++	+++/++++
—	—	—	1	—	33	—	++/++	+++	+
—	—	—	—	—	44	—	+++	++/++	++
3	8	—	31	38	24 ^{b)}	—	+++	+++	++/++
—	—	—	—	—	—	—	+/-	++/++	++/++
—	—	—	—	—	9	—	++++	++/++	++/++
—	—	—	—	—	2	—	+++	++/++	++
—	—	5	—	2	4	—	(+/-)	+++	—
—	—	5	—	1	3	—	++/++	+	O
—	—	5	—	—	2	—	++/++	++	++/++
—	—	5	—	1	6	—	++/++	++/++	+/-/++
—	—	5	—	—	7	—	+++	++/++	++

^{a)} Die bei der Sorte Sickingen in hoher Zahl aufgetretenen kranken Stauden waren als des schlechten diesjährigen Saatgutes primär nur zum geringsten Teil auf Schwarzbeinigkeit zurückzuführen, was sich schon aus der Anzahl erkrankter Pflanzen der Kontrollreihen eindeutig ergibt.

^{b)} Höchster Grad von Resistenz: ++++; höchster Grad von Anfälligkeit: O.

Noch Tabelle 1

II. Zur Anerkennung und damit zum Handel

Sorte	Anzahl der aufgelaufenen Knollen															
	Dahlem 1943				Gliesmarode 1944				Streckenthin 1944				Alt-Autz 1944			
	Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43	
Aquila	100	100	81	100	100	76	97	98	61	88	67	16				
Capella				99	160	74	98	99	69	97	93	47				
Centa				100	99	63	96	97	92							
Cuculus				90	85	72	76	77	64	81	77	1				
Depesche				100	99	68	99	90	96							
Erika				54	54	29	50	53	12	83	61	25				
Falke				99	99	69	96	96	75	86	66	10				
Flämingskost . .				100	90	14	97	95	50	96	90	6				
Flämingsstärke . .				100	97	37	99	98	47	85	88	12				
Frühnudel										96	98	69				
Gemma	100	93	24	100	100	68	88	75	44 ¹⁾	98	93	3				
Gigant				100	100	42	99	100	36	77	64	13				
Glückspilz							95	88	62							
Monika				99	100	28	100	99	37	93	93	4				
Olympia				100	94	71	100	98	29	100	100	72				
Optima	100	100	57													
Roswitha				100	100	86	99	86	49	99	95	33				
Speisegold				100	100	78	99	98	96	99	95	33				
Vera				100	100	74	95	99	70	100	95	41				

¹⁾ Es ist zu beachten, daß von der Sorte Gemma in Streckenthin nur jeweils 89—100 Knollen zur Verfügung standen.

als Kontrolle verwendet, 100 mit *Bact. phytophthora* Stamm 14 und 100 mit Stamm 43 (3) infiziert. Die Art der Infektion und die Aufbewahrung des infizierten Materials vor dem Auslegen erfolgte in analoger Weise wie bereits früher angegeben (vgl. 4, S. 102/103). Die jeweils 100 Knollen wurden in 4 Reihen zu 25 Knollen ausgelegt. Der Reihenabstand betrug etwa 60 cm, der Abstand in der Reihe 40 cm. Von den beiden Bakterienstämmen 14 und 43 war der erstere ursprünglich am stärksten pathogen gewesen (4), in seiner Virulenz aber allmählich zurückgegangen, während Stamm 43 anscheinend in der gleichen Zeit an Pathogenität zugenommen hatte (vgl. 5, S. 150/151). Jedenfalls erwies sich Stamm 14 zur Zeit der Versuchsanstellung 1944 nur als schwach, Stamm 43 als stark pathogen. In Alt-Autz waren aus technischen Gründen die Nadeln zur Herstellung des Stichkanals etwas größer gewählt worden als an den beiden anderen Versuchsorten, so daß in Alt-Autz die Menge an Bakterienmaterial, das in die Knolle injiziert wurde, etwa doppelt so groß war als in Gliesmarode und Streckenthin. Das Auslegen der Knollen aller Sorten in Gliesmarode ließ sich wegen der verzögerten Eingänge des Pflanzgutes nicht, wie vorgesehen, in 2 Serien innerhalb von 4 Tagen ermöglichen, sondern erfolgte in 4 Serien, und zwar in der Zeit vom 25. April bis 25. Mai 1944. Bis 28. April waren allerdings bereits 32 Sorten im Boden, am 12. Mai folgten weitere 17 Sorten. Ein Teil der bestellten Sorten lief wegen besonderer

als Saatgut bedingt zugelassene Sorten:

Anzahl der Pflanzen mit Schwarzbeinigkeitsbefall						Bewertung auf Resistenz			
Dahlem 1943		Gliesmarode 1944		Dahlem 1943	Gliesmarode 1944	Streckenthin 1944	Alt-Autz 1944		
Kontr	St. 14	St. 43	Kontr.	St. 14	St. 43				
—	—	—	1	—	19	+++	+++	(+++)	++
			—	—	10		+++	+++	++
			—	—	39		+++	+++	
			10	14	15		+++	+++	○
			—	—	9		+++	++	
			10	19	7		+++	++++	
			—	—	5	nicht auswerbar	+++	+++	+
			—	—	—		+	++	+
			—	5	3		++	++	+
			—	—	—				
—	3	—	—	—	15	+/++	++	++	+++
			—	—	13		+/-	+/-	○-+
			—	—	—				+
			—	2	47		+	+/-	○-+
—	—	1	—	3	4	++	+/-	+/-	+++
			—	—	2		+/-	+/-	++
			—	—	22		(+++)	+/-	++

Transportschwierigkeiten u. dgl. in Gliesmarode nicht ein. Davon konnte ein Teil aber an den beiden anderen Versuchsstellen geprüft werden. 11 Sorten fehlten an allen 3 Versuchsorten.

Das Feldstück in Gliesmarode, das als Vorfrucht Winterweizen getragen hatte, war nicht im gleichen Frühjahr, sondern bereits 3 Jahre vorher zum letztenmal mit Stallmist abgedüngt worden. Die Gaben an Kali und Thomasmehl betrugen auch nur je 2,5 dz/ha. Im Juni wurde noch eine Kopfdüngung mit Ammonsulfat (3,5 dz/ha) gegeben. Die Feldstücke in Streckenthin und Alt-Autz waren in sehr gutem, für die Kartoffel geeigneten Kulturstand und hatten im Frühjahr eine ausreichende Stallmist- und später Mineraldüngergabe erhalten.

Das Auslegen der Knollen erfolgte in Alt-Autz am 16. und 17. Mai und in Streckenthin am 20. und 22. Mai 1944.

Als Vorfrucht auf demjenigen Feldstück, auf dem in Dahlem die Versuche 1943 durchgeführt wurden, war ebenfalls Getreide angebaut, und es war in derselben Weise gedüngt worden wie bei den gleichlaufenden früheren Versuchen (5).

Infolge der kriegerischen Ereignisse in den baltischen Ländern im Sommer 1944 konnten nur die Anfangserfolge der Infektion mit dem bakteriellen Erreger protokollarisch festgehalten werden, weshalb auch eine einwandfreie Bonitierung nicht möglich war. Immerhin gestatten

die Zahlen der nach der Infektion aufgelaufenen Knollen im Verhältnis zur Kontrolle eine vorsichtige Mitbewertung im Rahmen der Gesamtversuche.

Eine gewichtsmäßige Erfassung der Ernte jeder Reihe, wie sie stets in früheren Versuchen in Dahlem und auch bei dem hier zu besprechenden vom Jahre 1943 in Dahlem und 1944 in Gliesmarode erfolgt ist, ließ sich in Streckenthin nicht durchführen, da das Versuchsgelände dreiseitig von Wald umschlossen war und gegen Ende des Versuches stärkerer Wildschaden auftrat.

Bemerkt muß noch werden, daß in Streckenthin auch nicht, wie eigentlich vorgesehen, die 300 Knollen jeder Sorte in 12 Reihen nebeneinander ausgelegt wurden, und zwar 4 Reihen Kontrolle, 4 Reihen Knollen, geimpft mit Stamm 14 und 4 mit Stamm 43, sondern jeweils nur eine Kontroll- und 2 Impfreihen und diese dann in dreifacher Wiederholung über das Feldstück verteilt. Durch ein weiteres Mißverständnis sind die Bonitierungen der schwarzbeinigen Pflanzen in Streckenthin in einer Weise vorgenommen worden, die eine sichere Bewertung im Gesamtrahmen leider jedoch nicht ermöglichen, weshalb auch von einer Wiedergabe in den nachfolgenden Zusammenstellungen abgesehen wurde. Immerhin ist die Anzahl der schwarzbeinigkeitskranken Pflanzen in Streckenthin im allgemeinen größer gewesen als in Gliesmarode. Vor allem zeigten auch die Kontrollreihen häufiger Erkrankungen, die in den früheren Dahlemer Versuchen sehr selten und auch 1944 in Gliesmarode nur gelegentlich auftraten. Das mag einmal damit zusammenhängen, daß bei den Streckenthiner Versuchsreihen jede Kontrollreihe nach links an eine Knollenreihe, geimpft mit dem stark pathogenen Stamm 43, anschloß. Begünstigend hierfür wird zum anderen auch der späte Termin des Auslegens anzusehen sein, ebenso wie die durchschnittlich höhere Luftfeuchtigkeit als in Gliesmarode.

Die untersuchten Sorten, die Anzahl der jeweils aufgelaufenen Knollen jeder Sorte und die Zahl der Pflanzen, die Schwarzbeinigkeit auf dem Dahlemer Versuchsfelde während der Vegetationsperiode aufwiesen, sind in Tabelle 1 zusammengestellt, ebenso wie die Bewertung auf Grund des Standes auf dem Felde und teilweise auch bei der Ernte. (Siehe Tabelle 1, S. 204—207.)

Wenn auch die Auswertung des Alt-Autz-Versuches nur mit Vorbehalt erfolgen kann, so lassen sich doch aus der Zahl der mit dem hochpathogenen Stamm 43 infizierten aufgelaufenen Knollen einigermaßen sichere Angaben über die Anfälligkeit bzw. Resistenz der Sorte machen. Infolge der in Alt-Autz verwendeten größeren Impfmenge liegt bei den anfälligeren Sorten auch die Zahl der aufgelaufenen Knollen meist niedriger.

Es wird nicht bestritten werden können, daß in Fällen, in denen von 100 infizierten Knollen nur 1—3 auflaufen, diese Sorte, zumindest für die dortige Gegend als stark anfällig bezeichnet werden muß. Umgekehrt ist der Schluß: Hohe Zahl aufgelaufener infizierter Knollen = hohe Resistenz, zwar nicht zwingend, aber die Erfahrungen im Laufe der vielen Versuchsjahre haben im allgemeinen die Richtigkeit bestätigt.

Dabei ist mit Genugtuung festzustellen, daß die Zahl der gegen Schwarzbeinigkeit resistenten Sorten in der Sortenliste 1943 gegenüber früher eine durchaus beachtenswerte Erhöhung erfahren hat. Das geht auch aus Tabelle 2 hervor, in der die Erntergebnisse der im Jahre 1943 in Dahlem und 1944 in Gliesmarode geprüften Sorten eingetragen sind. Wenn die Erntemengen im Versuch Dahlem 1943 im allgemeinen wesentlich höher liegen als diejenigen derselben Sorten in Gliesmarode 1944, so hat das zwei Gründe. Als Hauptursache ist die anhaltende Trockenheit im Sommer 1944 anzusprechen, dazu kommt als zweite

immerhin auch ins Gewicht fallende, daß das Feldstück in Griesmarode vor der Bestellung mit Kartoffeln keine Stallmistdüngung erhalten hat, wie das sonst üblich ist.

Tabelle 2

Kartoffelsorte	Erntegewicht der Knollen je Reihe = 25 Knollen Durchschnittswert in kg			Kartoffelsorte	Erntegewicht der Knollen je Reihe = 25 Knollen Durchschnittswert in kg		
	Kon- trolle	geimpft mit Stamm 14	geimpft mit Stamm 43		Kon- trolle	geimpft mit Stamm 14	geimpft mit Stamm 43
a) 1943 in Dahlem							
Agnes	26,3	28,6	11,4	Optima	12,4	12,0	7,3
Aquila	21,4	18,5	15,9	Primula	16,3	15,6	4,2
Carnea	22,3	21,7	18,6	Sabina	18,0	16,1	13,2
Edelgard	18,4	17,7	13,8	Sieglinde	14,0	13,6	2,9
Gemma	22,8	22,4	6,4	Viola	15,7	15,5	9,4
Havilla	18,6	21,3	7,6				
b) 1944 in Griesmarode							
Ackersegen	13,6	13,4	11,3	Krebsf Kaiserkrone .	1,9	2,4	1,5
Agnes	16,2	17,6	6,8	Lichtblick	11,4	11,1	1,4
Alpha	15,9	17,4	15,9	Mensa	14,9	16,7	3,3
Aquila	13,1	12,2	12,0	Mittelfrühe	9,7	8,7	5,2
Capella	13,2	13,0	13,7	Monika	17,0	17,8	3,2
Carnea	16,5	16,0	11,0	Möwe	12,1	10,2	6,6
Centa	14,3	12,0	6,1	Olympia	7,7	8,9	4,8
Condor	7,1	6,5	2,9	Ostbote	11,2	9,4	6,7
Cucus	5,1	3,3	4,4	Parnassia	14,2	13,1	10,3
Depescho	7,2	8,6	5,5	Pepo	16,7	13,5	10,0
Direktor Johanssen .	9,1	6,8	0,8	Primula	6,1	6,6	1,0
Edelgard	12,8	11,5	10,6	Priska	13,5	14,1	10,0
Erdgold	15,2	14,1	4,7	Robusta	15,6	14,7	13,8
Erika	6,4	9,2	1,7	Roland I	11,9	11,5	5,9
Falke	12,1	10,3	8,4	Roswitha	9,3	8,5	4,5
Flämingskost .	16,3	16,6	3,6	Rubingold	11,7	13,0	8,9
Flämingsstärke .	17,3	15,4	10,3	Sickingen	7,1	6,1	4,4
Frühbote	9,8	7,4	3,4	Sieglinde	5,7	6,9	2,5
Führgold	9,8	10,7	12,0	Speisegold	9,7	7,0	4,8
Frühmölle	7,0	7,8	3,0	Stärkeragis	10,3	9,6	9,2
Gemma	15,6	15,9	6,6	Stärkereiche I	17,7	20,4	11,4
Gigant	15,6	15,3	3,6	Tiger	7,4	7,3	6,2
Havilla	8,9	12,0	3,1	Vera	10,0	9,6	5,9
Johanna	15,1	17,0	16,0	Viola	5,0	4,8	1,2
Jubel	8,8	8,5	1,8	Voran	13,7	13,8	11,4
Juli	7,1	7,0	0,5	Weißes Rößl	18,5	13,8	10,4
Konsuragis	9,6	10,7	9,6	Wekaragis	6,9	5,2	3,7

Bei den in früheren Jahren bereits durchgeföhrten Untersuchungen über die Resistenz gegen Schwarzbeinigkeit befand sich auch schon eine Anzahl von Sorten, die jetzt noch auf der Sortenliste stehen, darunter auch einige, die 1944 nicht geprüft werden konnten. Letztere sind, um eine möglichst weitgehende listenmäßige Erfassung der jetzigen Sorten zu ermöglichen, mit einbezogen worden.

Nach dem Grade der Widerstandsfähig- oder Anfälligkeit ergibt sich folgende Einteilung:

Widerstandsfähig:	Ziemlich widerstandsfähig:	Anfällig:
Carnea	Ackersegen	Agnes
Flava	Alpha	Capella
Johanna	Aquila	Condor*)
Priska	Centa	Erdgold*)
Robusta	Depesche	Falke*)
Sickingen	Edelgard*)	Frühmölle*)
Stärkeragis	Frühgold*)	Glückspilz**)
	Frühnudel**) Krebsf. Kaiserkrone*)	Goldwährung
	Möve	Konsuragis
	Parnassia	Mittelfrühe
	Pepo	Olympia*)
	Sandnudel	Optima
	Speisegold	Ostbote
	Tiger	Roland I
	Voran	Roswitha
	Weißes Rößl	Rubingold
	Weltwunder	Sabina
		Sieglinde
		Stärkereiche I
		Vera
		Wekaragis

Stark anfällig:	Sehr stark anfällig:	Bisher nicht untersucht:
Cuculus	Altgold	Fram
Direktor Johanssen	Juli	Fridolin
Edda	Primula	Früheste Delikateß
Flämingkost	Viola	Herulia
Flämingstärke		Schlesien
Frühbote		Spätrot
Gemma		
Gigant		
Havilla		
Jubel		
Lichtblick		
Mensa		
Merkur		
Monika		
Preußen		

Die Anordnung in den einzelnen Rubriken erfolgte alphabetisch. Verständlicherweise haben bei der Eingliederung in diese nicht nur Sorten mit völlig gleicher Resistenz bzw. Anfälligkeit Berücksichtigung gefunden; so ist z. B. die Carnea nicht diejenige Sorte, die an der Spitze aller widerstandsfähigen stehen muß, sondern wird z. B. von Flava und Sickingen u. a. an Resistenz übertroffen.

Als einzige, die infolge des schlechten Saatgutes bei den Prüfungen nicht auswertbar war, verbleibt die Sorte Erika, sie scheint allerdings zu den stärker anfälligen Sorten zu gehören. Auch das Saatgut der Sorte Sickingen war in Gliesmarode und Streckenthin auffallend schlecht; es konnten nicht

einmal jeweils 300 für die Versuche geeignete Knollen ausgesucht werden. Da die Zahl der aufgelaufenen Knollen der Kontrollreihen zum Teil niedriger liegt als diejenige der geimpften, dürfte dennoch die hohe Resistenz dieser schon früher untersuchten Sorte auch 1944 nicht in Zweifel zu ziehen sein.

Die in der Aufteilung mit einem Stern versehenen Sorten haben in den verschiedenen Jahren oder an den verschiedenen Standorten größere Anfälligkeitsschiede ergeben. Diese Unterschiede sind keineswegs gleichlaufend, wie das aus der Tabelle 3 zu erscheinen ist, in der die Bewertungsresultate einiger herausgegriffener Sorten innerhalb der verschiedenen Jahre und Standorte eingetragen sind.

Die mit 2 Sternen versehenen Sorten sind bisher nur in einem einzigen Versuch geprüft.

Alle Untersuchungen der Jahre 1929—1943 wurden auf dem Versuchsfeld der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem durchgeführt, nur der von 1944 an drei räumlich und auch klimatisch unterschiedlichen Orten und nicht in Dahlem.

Wenn z. B. die Anfälligkeit der Sorten Mittelfrühe und Ostbote in den Jahren 1935 und 1936 stark bzw. sehr stark war, die Widerstandsfähigkeit 1944 jedoch eine deutliche Erhöhung zeigte, so kann das nicht auf eine etwaige Virulenzeinbuße des benutzten Bakterienstammes Nr. 43 zurückgeführt werden. Hiergegen sprechen nämlich die Resistenzbefunde der Sorte Jubel, die 1933 mit ++++ und 1934 mit +++ zu bewerten waren, während 1944 in Gliesmarode die Bewertung wesentlich schlechter und zwar =+ ausgefallen ist. Noch eindeutiger liegen die Verhältnisse bei der Sorte Direktor Johanssen, die 1929 und 1930 gleichbleibend mit ++/+++ bonitiert wurde, dagegen 1944 sowohl in Gliesmarode als auch in Streckenthin einheitlich mit +.

Andererseits zeigte z. B. die Sorte Flava in den verschiedenen Jahren eine gute Übereinstimmung im Resistenzergebnis, und zwar 1933: +++, 1934: +++, 1944 in Streckenthin: +++, in Alt-Autz: +++/++++. Ebenso verhält es sich mit Sickingen; 1935: +++/+++, 1936: +++, 1944¹⁾ in Gliesmarode: +++, in Streckenthin: +++, in Alt-Autz: +++. Bei der Sorte Priska sind von 5 Ergebnissen 2 =++, 2 =++/+++ und 1 =+++. Demnach haben die stärker resistenten Sorten ihre Widerstandsfähigkeit im Laufe der Jahre zumeist ziemlich unverändert behalten.

Soweit stärkere Anfälligkeitsschiede unter sonst völlig gleichen Versuchsbedingungen wie in Dahlem von 1928—1943 sich zeigten, können sie schwerlich allein durch die Witterung bedingt sein. Da die Kartoffelvermehrung vegetativ erfolgt, scheint die Anfälligkeit auch nicht durch genetische Faktoren beeinflußt zu sein. Es dürften dann solche Schwankungen, wie z. B. bei Voran gar nicht auftreten. Bei der Eingruppierung nach dem Resistenzgrad sind bei diesen Sorten im wesentlichen die letztjährigen Resultate zugrunde gelegt.

Späteren Untersuchungen muß es vorbehalten bleiben, die Frage zu klären, ob diejenigen Sorten, die nach den letzten Prüfungen eine deutliche

¹⁾ Bezuglich der Bewertung der Sorte Sickingen im Jahre 1944 gilt das bereits oben Gesagte.

Tabelle 3

Versuchsjahr bzw. -ort und Beurteilung der Resistenz

1944

Sorte

Dahlem

Gliessmarode

Strelkenthin

Alt-Autz

C. Stapp

Sorte	Dahlem	Gliessmarode	Strelkenthin	Alt-Autz
Ackersegen . . .	1932 ++	1933 ++	+++	-
Direktor Johanssen	1929 ++/+/-	1930 ++/++-	+	-
Etegård . . .	-	-	++++	-
Jubel . . .	1933 ++/++	1934 ++	+++	+
Konsuragis . . .	1935 (+)	1936 +/++	+++	++
Krebsfeste Kaiser- krone . . .	1935 +/++	1936 ++	+++	+++
Mittelfrühe . . .	1935 (+)	1936 (+)	+++	-
Ostbote . . .	1935 (+)	1936 +	+++	++
Roland I. . .	1935 ++	1936 ++/++-	+++	+
Sieglinde . . .	-	-	++	-
Voran . . .	1935 (+)	1936 +/++	+++/++++	+++
Wekaragis . . .	1935 ++	1937 ++	+++	++
		1938 ++	1939 ++	++
		1940 ++		

Resistenzerhöhung aufwiesen, diese in Zukunft behalten und umgekehrt, die anfälliger gewordenen auch weiterhin anfälliger sein werden.

Schon bei meinen früheren Untersuchungen über die Resistenz der Kartoffelsorten gegenüber *Bact. phytophthorum*, bei denen auch die entsprechende Literatur Berücksichtigung gefunden hat, wurde der Frage nachgegangen, ob, wie teilweise von anderer Seite vermutet oder behauptet wurde, engere Korrelationen zwischen der Reifezeit, der Schalendicke, dem Wundperiderm-Bildungsvermögen und der Zersetzungsgeschwindigkeit des Parenchymgewebes der Knollen und Anfälligkeit gegenüber *Bact. phytophthorum* bestehen. Derartige Beziehungen ließen sich jedoch nicht feststellen. Zwar wurde damals darauf hingewiesen, daß bei den sehr stark anfälligen Sorten diejenigen mit Frühreife etwas vorherrschten, unter den stark anfälligen befand sich aber nur eine Sorte mit Frühreife, dagegen waren es vier mit Spätreife. Bei der hier vorliegenden Aufteilung sind sogar von den 4 sehr stark anfälligen Sorten 3 frühreif, von den stark anfälligen jedoch nur eine, in der Rubrik „anfällig“ dagegen 3 und in der „ziemlich widerstandsfähig“ eine. Daraus lassen sich eindeutige Relationen abermals nicht ableiten.

Dagegen schien es mir damals (5) „gerechtfertigt“, zwischen Gelbfleischigkeit und Anfälligkeit Beziehungen als bestehend anzusehen, weil sowohl nach den Untersuchungsergebnissen vor 1935, wie denen von 1935 und 1936 der höchste Prozentsatz der „sehr stark anfälligen“ Sorten zu den gelbfleischigen gehörte; es waren zuerst von 8 Sorten 7, dann von 12 Sorten sogar 11 gelbfleischig. Unter den widerstandsfähigen befand sich allerdings auch eine gelbfleischige. Unter Zugrundelegung der neuen Ergebnisse muß diese Beziehung jedoch wieder als fraglich hingestellt werden, obwohl alle vier „sehr stark anfälligen“ Sorten zu den gelbfleischigen zählen und von den 15 „stark anfälligen“ 11; denn unter den als „widerstandsfähig“ aufgeführten 7 Sorten befinden sich diesmal 3 gelbfleischige und unter den 18 „ziemlich widerstandsfähigen“ sogar 9¹⁾.

Es war seinerzeit von mir darauf hingewiesen worden, daß *Bact. phytophthorum* Stamm 14 ursprünglich eine höhere Pathogenität besessen hatte als Stamm 43, daß die Virulenz des ersteren aber seit 1929 allmählich zurückgegangen ist, während es schien, als ob Stamm 43 an Virulenz zugonnen hätte. Dieser Pathogenitätsverschiebung ist auch weiterhin volle Beachtung geschenkt worden. Die starke Virulenzminderung des Stammes 14 ist in den Jahren ab 1936 bestehen geblieben; sie ist mit Stamm 43 in Dahlem alljährlich unter völlig gleichen Versuchsbedingungen bis 1940 an den Sorten Wekaragis und Treff As überprüft worden, und Stamm 43 hat, wie Tabelle 3 für Wekaragis zeigt, seine erhöhte Virulenz ab 1936 behalten. Sie wirkte sich bei der sehr anfälligen Sorte Treff As, die inzwischen von der früheren Reichssortenliste gestrichen ist und zu den „sehr stark anfälligen“ Sorten gehörte, ebenfalls gleichmäßig sehr stark virulent aus (Bewertung von Treff As = 0—+). Daß demnach noch eine weitere Steigerung der Virulenz von Stamm 43 erwartet werden kann, scheint kaum möglich.

¹⁾ Zwischen hellgelb und gelb in der Fleischfarbe ist keine Trennung vorgenommen.

Über die Gesamtergebnisse dieser Untersuchungen wurde in einer vorläufigen Mitteilung 1947 bereits kurz berichtet (6).

Zusammenfassung

Auf Grund der früheren und der neuen Untersuchungen über die Resistenz bzw. Anfälligkeit der auf der Reichssortenliste von 1943 stehenden deutschen Kartoffelsorten gegen den Erreger der Schwarzbeinigkeit und Knollen- naßfäule, *Bact. phytophthorum* Appel, können 7 Sorten als „widerstandsfähig“, 18 Sorten als „ziemlich widerstandsfähig“, 21 als „anfällig“, weitere 15 als „stark anfällig“ und 4 Sorten als „sehr stark anfällig“ angesprochen werden. 6 Sorten sind nicht erfaßt worden, und eine Sorte war wegen der schlechten Beschaffenheit der gelieferten Hochzucht in ihrem Ergebnis nicht auswertbar.

Ob zwischen Gelbfleischigkeit der Sorte und ihrer Anfälligkeit gegenüber *Bact. phytophthorum* direkte Beziehungen bestehen, was nach den älteren Versuchsergebnissen als gegeben betrachtet wurde, scheint nunmehr wieder fraglich, weil auch der Hundertsatz der gelbfleischigen „widerstandsfähigen“ und „ziemlich widerstandsfähigen“ Sorten nach den neuesten Prüfungsergebnissen verhältnismäßig hoch ist.

Von den zur Infektion verwandten beiden Stämmen des *Bact. phytophthorum* Appel hat der eine, Stamm 14, seine allmählich eingetretene Schwächung der Virulenz auch weiterhin behalten, während Stamm 43 einen so hohen Grad von Pathogenität erlangt hat, daß eine weitere Steigerung nicht mehr möglich erscheint.

Schrifttum

- 1 Snell, K. und Geyer, H. Die zugelassenen deutschen Kartoffelsorten, ihre Erkennung, Unterscheidung und wirtschaftliche Bewertung. 8. neubearb. Aufl., 90 S. Berlin 1943.
- 2 Desgleichen. 10. ergänzte Aufl. Berlin und Hamburg 1948.
- 3 Stapp, C. Die Schwarzbeinigkeit und Knollennaßfäule der Kartoffel. Arb. a. d. Biol. Reichsanstalt f. Land- und Forstwirtschaft **16**, 643—703, 1928.
- 4 Stapp, C. Beitrag zur Frage der Widerstandsfähigkeit verschiedener Kartoffelsorten gegen Schwarzbeinigkeit und Knollennaßfäule, verursacht durch *Bacillus phytophthorus* Appel. Angew. Botanik **17**, 97—117, 1935.
- 5 Stapp, C. Weitere Beiträge zur Frage der Widerstandsfähigkeit verschiedener Kartoffelsorten gegen Schwarzbeinigkeit und Knollennaßfäule, verursacht durch *Bacterium phytophthorum* Appel. Angew. Botanik **19**, 141—152, 1937.
- 6 Stapp, C. Neuere Untersuchungen über die Resistenzverschiedenheiten deutscher Kartoffelsorten gegen *Bacterium phytophthorum* Appel. Vorl. Mittl. „Festschrift Appel“, S. 36—37, Biolog. Zentralanstalt Berlin-Dahlem 1947.

*Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen
Zentralanstalt Braunschweig-Gliesmarode*

Untersuchungen über Vorkommen und Nachweis serologisch differenter Y-Viren der Kartoffel

Von
C. Stapp und O. Marcus

Mit 4 Abbildungen

Bei unseren ersten serologischen Untersuchungen über die Kartoffelviren (Stapp und Bercks [11]) wurde der Nachweis erbracht, daß sich unter den X-Viren der Kartoffel 2 serologisch unterschiedliche Gruppen befinden und daß diese Gruppen sich mit denen decken, die Köhler (3) als X^E und X^N beschrieben hat. Damit fanden gleichzeitig die Angaben von Chester (1) über das Vorkommen serologisch unterschiedlicher X-Viren ihre Bestätigung. Außerdem wurde von uns gezeigt, daß es dabei dennoch möglich ist, mit jedem beliebigen Antiserum dieser zwei differenten X-Gruppen beide nachzuweisen (Stapp [9]).

Die Frage, ob sich auch alle Y-Viren der Kartoffel serologisch einheitlich verhalten, wurde zunächst noch offen gelassen. Wörtlich wurde damals von uns (Stapp 8) gesagt: „Obwohl sich das „Y-artige“ Virus, mit dem nach Köhler und Bärner die holländische Sorte „Zeeuwsche Blauwe“ latent befallen ist, mit unserem Y-Antiserum nachweisen läßt, demnach als gleichartiges Y-Virus angesprochen werden muß, ebenso die Köhlerschen Y-Stämme DJ aus Direktor Johanssen und 2 A, steht noch nicht sicher fest, ob etwa mit mehreren, serologisch unterschiedlichen Y-Viren zu rechnen ist.“

Unsere Y-Antiseren hatten wir bisher mit einem Y-Virus-Stamm gewonnen, den uns Herr Oberregierungsrat Dr. Köhler seinerzeit freundlicherweise zur Verfügung gestellt hatte, und der von ihm aus der Kartoffelsorte Gustav Adolf (GA) isoliert worden war. Wenn wir mit diesem Y-Serum das Kartoffellaub oder auch Dunkelkeime der Kartoffelsorte „Frühe Hörnchen“ auf das Vorhandensein von Y-Virus prüften, so bekamen wir nur in seltenen Fällen eine positive Reaktion. Nach Köhler und Bärner (5) sind aber „Frühe Hörnchen“, „Rote Mäuse“ und „Tannenzapfen“ sogenannte latente Y-Virusträger. Dieses Versagen der Sero-Mikro-Reaktion bei „Frühe Hörnchen“ konnte zwei Ursachen haben. Die erste war das Vorliegen eines Y-Virus, das sich serologisch anders verhielt als das GA-Virus, die zweite Ursache konnte möglicherweise darin liegen, daß das Y-Virus in dieser Kartoffelsorte nur in so geringer Konzentration vorliegt, daß es nicht mit der serologischen

Methode erfaßbar sein würde. Wenn uns auch die zweite Annahme recht unwahrscheinlich vorkam, so mußte sie bei der Klärung dieser Frage gegebenenfalls doch beachtet werden. Der erste Grund war der einleuchtendere, weshalb wir darangingen, das Y-Virus von „Frühe Hörnchen“ auf Tabakpflanzen (Samsun) abzureiben. Vergebens warteten wir auf das Auftreten irgendwelcher Symptome. Deshalb gingen wir dazu über, unmittelbar aus dem Preßsaft des Laubes dieser Kartoffelsorte das Virus anzureichern und zu Injektionen der Versuchstiere zu verwenden. Das auf diese Weise gewonnene Serum sprach bei seiner Prüfung gleichzeitig schwach auf das Y-GA an. Wurden versuchsweise mehrere Kubikzentimeter mit Preßsaft von Tabakpflanzen, die mit GA-Virus abgerieben worden waren, abgesättigt, so war die Reaktion auf GA negativ und blieb eindeutig positiv gegen FH. Es mußten unter den Kartoffelpflanzen von „Frühe Hörnchen“ demnach solche gewesen sein, die gleichzeitig mit einem auf GA-Serum ansprechenden Y-Virus infiziert waren. Um von vornherein ein einwandfreies und spezifisch wirkendes FH-Serum zu erlangen, wurden einige Kartoffelpflanzen vom Felde auf ihr Verhalten gegen FH- und GA-Serum geprüft. Von den nur auf FH-Virus ansprechenden Pflanzen wurde Saft auf Tabak (Samsun) abgerieben und später der Saft dieser Pflanzen zur Fällung und Anreicherung des Virus verwandt.

In zahlreichen Versuchen mit Preßsaft von Tabakpflanzen, Kartoffellaub und Dunkelkeimen zeigte sich immer wieder, daß mit „Frühe Hörnchen“-Serum stets nur das Virus aus „Frühe Hörnchen“ positiv reagierte, daß dagegen auf GA-Serum alle die Köhlerschen Y-Stämme ansprachen, auch das Go 16, das von Köhler (4) aus der Kartoffelsorte „Goldgelbe“ 1937 erstmalig isoliert und auf Samsun „weitergezüchtet“ worden war. Das GA-Virus soll nach Köhler (2) wiederum dem sehr verbreiteten Y-Virus von M. Smith entsprechen.

Von deutschen Kartoffelsorten sind, wie gesagt, außer „Frühe Hörnchen“ auch die Sorten „Rote Mäuse“ und „Tannenzapfen“ Y-Virusträger. Es galt daher noch zu entscheiden, ob das in diesen Sorten, die ebenso wie „Frühe Hörnchen“ nach den Untersuchungen von Köhler und Bärner (5) „ausnahmslos“ mit Y-Virus infiziert sind, enthaltene Virus mit GA oder FH übereinstimmt, oder ob etwa noch eine dritte serologisch differente Y-Virusgruppe besteht. Das Virus der Sorte „Rote Mäuse“ und auch das von „Tannenzapfen“ wurde zunächst auf Samsuntabak übertragen und der virushaltige Preßsaft dann zur Herstellung von Antiseren benutzt.

Es standen uns schließlich Y-Antiseren von GA, Go 16, FH, RM (Rote Mäuse) und Tz (Tannenzapfen) sowie das A-Antiserum P 716/17 zur Verfügung. Bei der vergleichenden Serumprüfung ergab sich folgendes Bild (siehe Tabelle 1).

Aus diesen Prüfungsergebnissen geht also eindeutig hervor, daß die Y-Viren aus den Kartoffelsorten „Rote Mäuse“ und „Tannenzapfen“ serologisch völlig identisch sind mit dem Köhlerschen Y-Stamm GA und damit auch identisch mit allen anderen Köhlerschen Y-Stämmen. Nur Y-Virus aus „Frühe Hörnchen“ ist serologisch und wahrscheinlich in anderer Richtung von den oben genannten Y-Viren verschieden. So traten z. B. an den mit Y-Virus FH abgeriebenen Tabakpflanzen in unseren Versuchen niemals

Tabelle 1

Tabak- preßsaft von	Antiseren von								
	Y-Tz 215 ¹⁾	Y 210	-	RM 212	Y-GA 166	Y-FH 205	X-Cs35 164	A- P716/17 167	NS ²⁾ 144
X-Cs 35	⊕	⊕		⊕	⊕	⊕	+++	⊕	⊕
Y-GA	++	++		++/++	++	⊕	⊕	⊕	⊕
Y-FH	⊕	⊕		⊕	⊕	+/++	⊕	⊕	⊕
Y-RM	+/++	++/++		++	++/++	⊕	⊕	⊕	⊕
A- P716/17	⊕	⊕		⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
gesund	⊕	⊕		⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

Symptome auf, zum Unterschied von den mit Y-Virus GA, Go 16 und DJ infizierten Pflanzen.

Von 34 Tabakpflanzen, die mit Y-Virus aus „Tannenzapfen“ abgerieben worden waren, zeigten alle mit Antiserum von GA geprüften eine positive Reaktion, darunter sogar 16 mit einer Stärke von ++/+++. Auch dieser Befund bestätigt einwandfrei die Identität des Y-Virus von GA und Tz.

Von 50 Knollen der Sorte „Frühe Hörnchen“, von denen der Saft ihrer Dunkelkeime mit FH-Antiserum geprüft worden war, zeigten mehr als 50% positive Reaktionen. Wegen der vielfach geringen Saftausbeute der bekanntlich sehr dünnen Dunkelkeime dieser Frühsorte und aus anderen Gründen läßt das negative serologische Ergebnis bei den restlichen Knollen nicht ohne weiteres den Schluß zu, daß diese virusfrei sein würden. Es kam uns zunächst hier nur darauf an, die serologische Verschiedenheit der Y-Viren zu beweisen, was wohl auf Grund der bisherigen Befunde gelungen sein dürfte.

In unserer gemeinsamen Veröffentlichung (13) über Serumantrocknungsversuche war schon auf diese bestehende serologische Verschiedenheit der Y-Viren hingewiesen und im neunten und zehnten Versuch (S. 468/69) war bereits ein FH-Antiserum verwendet worden.

Neuerdings berichteten K. N. Smith und Dennis (7), daß sie aus einem Viruskomplex, der neben einer Nekrose hervorrufenden auch eine „Veinbanding“-Komponente enthielt, die letztere isolieren konnten; von dieser nehmen sie an, daß es sich um eine Variante des Kartoffel-Y-Virus handele. Es bleibt vorläufig abzuwarten, ob diese „Variante“ sich etwa mit unserem FH-Virus als identisch erweisen wird.

Nachdem nunmehr aber einmal feststand, daß zwei serologisch differente Y-Viren in deutschen Kartoffelsorten vorkommen, sollte noch geprüft werden, erstens, ob sie jeweils nebeneinander in den „Wirts“-Pflanzen auch einwandfrei nachweisbar sind, zweitens, wie sie sich innerhalb der gleichen „Wirts“-Pflanze ausbreiten und drittens, ob und wie sie sich gegebenenfalls gegenseitig beeinflussen.

Zur Klärung dieser drei Fragen wurde eine größere Anzahl junger, gesunder, im Wuchs und in der Entwicklungsstärke möglichst gleicher Tabakpflanzen der Sorte Samsun Bashi Bagli ausgesucht und in acht Serien aufgeteilt.

¹⁾ Die Nummern bezeichnen nur unsere Serumnummern.

²⁾ NS = Normalserum.

Die Infektion erfolgte nach der Blattabreibemethode. Die hierzu verwendeten frischen Preßsätze wurden zuvor auf serologische Reinheit des jeweiligen Y-Virus geprüft. Die einzelnen Serien unterschieden sich voneinander wie folgt:

- Serie I: Preßsaftgemisch von GA und FH-Virus 1:1 am gleichen Tage auf die beiden gleichen Blätter abgerieben.
- Serie II: Preßsätze von GA und FH-Virus getrennt am gleichen Tage auf je zwei verschiedene Blätter abgerieben.
- Serie III: Preßsaft von GA-Virus auf zwei Blätter abgerieben und 5 Tage später auf die gleichen Blätter Preßsaft von FH-Virus.
- Serie IV: Preßsaft von FH-Virus auf zwei Blätter abgerieben und 5 Tage später auf die gleichen Blätter Preßsaft von GA-Virus.
- Serie V: Preßsaft von GA-Virus auf zwei Blätter abgerieben und 5 Tage später auf zwei andere Blätter Preßsaft von FH-Virus.
- Serie VI: Preßsaft von FH-Virus auf zwei Blätter abgerieben und 5 Tage später auf zwei andere Blätter Preßsaft von GA-Virus.
- Serie VII: Kontrollinfektion nur mit Preßsaft von GA-Virus auf zwei Blätter.
- Serie VIII: Kontrollinfektion nur mit Preßsaft von FH-Virus auf zwei Blätter.

Die Infektionen aller Serien begannen am 21. September 1944. Die serologischen Analysen wurden 21, 29, 36, 43, 50 und 57 Tage nach der Erstinfektion durchgeführt und zwar in der gleichen Weise, wie das früher von uns (12) bereits genau beschrieben worden ist. Die Zeichen, auch diejenigen für die Stärke der Reaktion, sind die gleichen geblieben.

Für Y/GA-Virus ist also das Zeichen: 

Für Y/FH-Virus gilt das Zeichen: 

	= keine Präzipitation		bzw. 
	= sehr schwache Präzipitation	= (+)	
	= schwache Präzipitation	= +	
	= etwas stärkere Präzipitation	= +/++	
	= mäßig starke Präzipitation	= ++	
	= ziemlich starke Präzipitation	= ++/+++	
	= starke Präzipitation	= +++	
	= recht starke Präzipitation	= +++/++++	
	= sehr starke Präzipitation	= ++++	

In der Serie I waren nach 21 Tagen die Y-Viren innerhalb der analysierten Pflanze etwa folgendermaßen vorgedrungen: GA¹⁾ war erst schwach in den beiden Blättern oberhalb der abgeriebenen nachzuweisen; in diesen gleichen Blättern war FH deutlich stärker vorhanden und hatte schon schwach das nächsthöhere Blatt infiziert. FH war außerdem schwach in der mittleren Stengelpartie und in der Wurzel anwesend.

Nach 29 Tagen hatte sich das Bild in der dann analysierten Pflanze nicht wesentlich geändert.

¹⁾ Der Einfachheit halber wird hier für das GA-Virus nur die Abkürzung GA gebraucht, für FH-Virus einfach FH.

Nach 36 Tagen dagegen war in der dritten analysierten Pflanze dieser Serie das GA bereits bis in das oberste, das neunte Blatt gewandert, war aber in allen diesen Blättern bis auf das zweitoberste, das achte, nur schwach vorhanden, in letzterem allein war die Reaktionsstärke = ++. Das FH hatte in dieser Zeit die unteren Blätter deutlich stärker durchdrungen, war aber — immer von unten gerechnet — nur bis zum siebten Blatt vorgedrungen, es war ferner im unteren Stengelteil schwach und in der Wurzel etwas stärker vorhanden.

Am 43. Tage nach der Infektion zeigte sich die Verteilung der beiden Y-Viren in der dann analysierten Pflanze wesentlich anders. Bis in das neunte, auch hier noch das oberste Blatt, war das GA verhältnismäßig stark (++++) vorhanden, es war in der Triebspitze schwach, im oberen Stengelteil nicht, im mittleren und unteren Teil deutlich und in der Wurzel wieder nicht nachweisbar. FH war nach dieser Zeit überhaupt nicht mehr in den Blättern zugegen, sondern nur noch in der Triebspitze, dem mittleren und unteren Stengelteil und in der Wurzel zu finden.

Nach 50 Tagen ergab die serologische Analyse folgendes Bild: Das GA war noch in allen Blättern einwandfrei nachweisbar, nur schwach in der Triebspitze und nicht mehr im Stengel der Pflanze und auch nicht in der Wurzel. Das FH dagegen war nur noch im unteren Stengelteil und in der Wurzel zu finden.

Bei der letzten, 57 Tage nach der Infektion analysierten Pflanze handelte es sich um ein sehr gut entwickeltes Exemplar mit 13 Blättern, von denen die fünf untersten bereits abgewelkt und vertrocknet waren, das sechste bis zwölften Blatt enthielt das GA recht kräftig, das dreizehnte etwas schwächer. Auch im unteren Stengelteil war GA noch schwach vertreten. Das FH war noch ganz schwach im sechsten Blatt, das sehr starke GA-Symptome zeigte, nachzuweisen und sonst nur im untersten Stengelteil und kräftig in der Wurzel vorhanden.

Da es zur Zeit nicht möglich ist, an Hand so zahlreicher Abbildungen schematisierter Tabakpflanzen, wie in der früheren Veröffentlichung (12), eine gute Übersicht über die Virusausbreitung und -verteilung zu geben, andererseits doch ein tieferer Einblick in die analytischen Ergebnisse vermittelt werden soll, seien die serologischen Befunde der Einzelpflanzen der gesamten Serie II und auch die der Serie III in Tabellenform wiedergegeben.

Zur Erläuterung der Tabellen sei gesagt, daß die Blätter einer Pflanze stets von unten gezählt sind, daß also Nr. 1 das unterste Blatt der Pflanze ist. In der zweiten Spalte sind die Pflanzenteile, die analysiert wurden, näher bezeichnet. Es bedeutet: Bl. = Blatt, Sp. = Triebspitze, o. St. = oberer Stengelteil, m. St. = mittlerer Stengelteil, u. St. = unterer Stengelteil und W. = Wurzel. Um die abgeriebenen Blätter kenntlich zu machen, ist jeweils hinter Bl. das betreffende Virus in Klammern gesetzt. In der dritten Spalte sind die auf den Blättern sichtbaren Symptome angegeben: k. = keine, schw. = schwache, d. = deutliche, st. = starke und s. st. = sehr starke GA-Symptome. Wenn sich in den drei letzten Spalten durchgehende Striche befinden, so bedeutet das, daß die Blätter bereits eingetrocknet waren und sich zur Analyse nicht mehr eigneten; wenn nur in den beiden letzten Spalten Striche zu finden sind, so waren die Blätter bereits, wenn auch schwach, angewelkt und gaben nicht verwertbare, unspezifische Reaktionen, d. h. es trat auch mit dem Normalserum eine Reaktion auf. Selbstverständlich wurden die Säfte aller Pflanzenteile stets auch gegen Normalserum geprüft und reagierten — bis auf die wenigen angeführten Fälle — negativ, weshalb die sechste Spalte hier weggelassen wurde.

Serie II

Nach 21 Tagen

Nr.	Pflanzen-teil	Sym-ptome	Y GA	FH
1	Bl. (GA)	k.	∅	∅
2	Bl. (FH)	k.	∅	∅
3	Bl. (FH)	k.	∅	(+)
4	Bl. (GA)	k.	∅	∅
5	Bl.	d.	++/++	++/+++
6	Bl.	st.	(+)	++
7	Sp.	schw.	∅	+
8	o. St.	—	∅	∅
9	m. St.	—	∅	+
10	u. St.	—	∅	(+)
11	W.	—	∅	(+)

Nach 29 Tagen

Nr.	Pflanzen-teil	Sym-ptome	Y GA	FH
1	Bl. (GA)	—	—	—
2	Bl. (GA)	—	—	—
3	Bl. (FH)	k.	∅	+/++
4	Bl. (FH)	k.	∅	(+)
6	Bl.	schw.	±/++	+
5	Bl.	st.	+++	+
7	Bl.	schw.	++/+++	∅
8	Bl.	st.	++	(+)
9	Bl.	schw.	∅	∅
10	Sp.	k.	∅	∅
11	m. St.	—	∅	+
12	u. St.	—	(+)	+
13	W.	—	∅	∅

Nach 36 Tagen

Nr.	Pflanzen-teil	Sym-ptome	Y GA	FH
1	Bl. (GA)	—	—	—
2	Bl. (GA)	k.	—	—
3	Bl. (FH)	k.	∅	++
4	Bl. (FH)	k.	—	—
5	Bl.	d.	—	—
6	Bl.	d.	++	++/+++
7	Bl.	st.	+	∅
8	Bl.	st.	+	∅
9	Bl.	d.	(+)	∅
10	Sp.	schw.	∅	∅
11	m. St.	—	∅	+
12	u. St.	—	∅	+/++
13	W.	—	∅	+

Nach 43 Tagen

Nr.	Pflanzen-teil	Sym-ptome	Y GA	FH
1	Bl. (FH)	—	—	—
2	Bl. (FH)	—	—	—
3	Bl. (GA)	k.	++	∅
4	Bl. (GA)	schw.	++/+++	∅
5	Bl.	d.	++/+++	+/-++
6	Bl.	schw.	++/+++	∅
7	Bl.	d.	++	∅
8	Bl.	schw.	++	∅
9	Sp.	schw.	+	∅
10	o. St.	—	∅	∅
11	m. St.	—	∅	∅
12	u. St.	—	+	+/-++
13	W.	—	—	—

Nach 50 Tagen

Nr.	Pflanzen-teil	Sym-ptome	Y GA	FH
1	Bl. (FH)	—	—	—
2	Bl. (FH)	—	—	—
3	Bl. (GA)	—	—	—
4	Bl. (GA)	k.	(+)	+/-++
5	Bl.	s. st.	++/+++	(+)
6	Bl.	st.	+/-++	++/+++
7	Bl.	st.	+/-++	∅
8	Bl.	d.	++/+++	∅
9	Bl.	st.	++/+++	∅
10	Bl.	st.	++/+++	∅
11	Bl.	st.	++/+++	∅
12	Bl.	d.	++/+++	∅
13	Sp.	schw.	(+)	∅
14	o. St.	—	∅	∅
15	m. St.	—	∅	∅
16	u. St.	—	∅	++
17	W.	—	∅	+/-++

Nach 57 Tagen

Nr.	Pflanzen-teil	Sym-ptome	Y GA	FH
1	Bl. (GA)	—	—	—
2	Bl. (FH)	—	—	—
3	Bl. (GA)	—	—	—
4	Bl. (FH)	—	—	—
5	Bl.	st.	++	+
6	Bl.	d.	++/+++	∅
7	Bl.	st.	++/+++	∅
8	Bl.	st.	++/+++	∅
9	Bl.	st.	++	∅
10	Bl.	st.	++/+++	∅
11	Bl.	st.	++/+++	∅
12	Bl.	d.	++/+++	∅
13	Bl.	d.	++	∅
14	Sp.	d.	+/-++	∅
15	o. St.	—	∅	∅
16	m. St.	—	∅	∅
17	u. St.	—	∅	(+)
18	W.	—	∅	++

Serie III

Nach 21 Tagen

Nr.	Pflanzenteil	Symptome	GA	Y	FH
1	Bl.	k.	⊖	⊖	
2	Bl. (GA+FH)	k.	⊖	(+)	
3	Bl. (GA+FH)	d.	(+)	(+)	
4	Bl.	schw.	+	⊖	
5	Bl.	st.	+/-++	++	
6	Bl.	d.	⊖	+/-++	
7	Sp.	schw.	⊖	(+)	
8	m. St.	—	⊖	(+)	
9	u. St.	—	⊖	+	
10	W.	—	(+)	++	

Nach 29 Tagen

Nr.	Pflanzenteil	Symptome	GA	Y	FH
1	Bl.	—	—	—	—
2	Bl.	k.	⊖	(+)	(+)
3	Bl. (GA+FH)	k.	(+)	(+)	(+)
4	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
5	Bl.	d.	—	++/+++	++
6	Bl.	st.	—	++	++
7	Bl.	k.	—	+	+
8	Bl.	k.	—	⊖	+
9	Sp.	k.	—	⊖	⊖
10	m. St.	—	—	⊖	+/-++
11	u. St.	—	—	⊖	+/-++
12	W.	—	—	⊖	⊖

Nach 36 Tagen

Nr.	Pflanzenteil	Symptome	GA	Y	FH
1	Bl.	—	—	—	—
2	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
3	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
4	Bl.	schw.	—	—	—
5	Bl.	k	(+)	+	
6	Bl.	schw.	(+)	⊖	
7	Bl.	schw.	⊖	⊖	
8	Sp.	schw.	⊖	⊖	
9	m. St.	—	⊖	⊖	
10	u. St.	—	⊖	++/+++	
11	W.	—	⊖	++/+++	

Nach 43 Tagen

Nr.	Pflanzenteil	Symptome	GA	Y	FH
1	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
2	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
3	Bl.	—	—	—	—
4	Bl.	schw.	+/-++	+/-++	++
5	Bl.	d.	++	++	⊖
6	Bl.	schw.	++	++	⊖
7	Bl.	d	++	++	⊖
8	Bl.	schw.	++	++	⊖
9	Sp.	d.	+	+	⊖
10	o. St.	—	—	⊖	⊖
11	m. St.	—	—	⊖	⊖
12	u. St.	—	(+)	—	++
13	W.	—	—	⊖	+/-++

Nach 50 Tagen

Nr.	Pflanzen- teil	Sym- ptome	GA	Y	FH
1	Bl.	—	—	—	—
2	Bl.	—	—	—	—
3	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
4	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
5	Bl.	—	—	—	—
6	Bl.	—	—	—	—
7	Bl.	st.	+/-++	+/-++	
8	Bl.	st.	++	⊖	
9	Bl.	st.	+/-++	⊖	
10	Bl.	st.	+/-++	⊖	
11	Bl.	st.	++	⊖	
12	Bl.	d.	+	⊖	
13	Sp.	schw.	(+)	⊖	
14	o. St.	—	⊖	⊖	
15	m. St.	—	⊖	⊖	
16	u. St.	—	(+)	+/-++	
17	W.	—	⊖	+/-++	

Nach 57 Tagen

Nr.	Pflanzen- teil	Sym- ptome	GA	Y	FH
1	Bl.	—	—	—	—
2	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
3	Bl. (GA+FH)	—	—	—	—
4	Bl.	—	—	—	—
5	Bl.	d.	+/-++	+/-++	+/-++
6	Bl.	d.	+/-++	+/-++	+/-++
7	Bl.	st.	+/-++	+/-++	⊖
8	Bl.	st.	+/-++	+/-++	⊖
9	Bl.	d.	+/-++	+/-++	⊖
10	Bl.	d.	+/-++	+/-++	⊖
11	Bl.	schw.	++	++	⊖
12	Bl.	schw.	(+)	(+)	⊖
13	Bl.	schw.	(+)	(+)	⊖
14	Sp.	schw.	⊖	⊖	(+)
15	o. St.	—	—	⊖	⊖
16	m. St.	—	—	⊖	⊖
17	u. St.	—	—	⊖	⊖
18	W.	—	—	⊖	+/-++

In der zweiten Serie, in der also GA und FH am gleichen Tage auf getrennten Blättern abgerieben wurde, war nach 21 Tagen das GA-Virus nur in 2 Blättern nachweisbar. Das FH-Virus war schon etwas stärker und zwar in 4 Blättern, sowie im oberen und unteren Stengelstück, ebenso in der Wurzel zu finden. Nach 29 Tagen ist das GA zwar weniger in der Ausbreitung als in der Stärke dem FH überlegen. Nach 36 Tagen ist GA in mehr Blättern zu finden als FH, dafür ist FH allein in den Stengeln und der Wurzel vorhanden. Nach 43, 50 und 57 Tagen hat GA an Stärke erheblich zugenommen und FH ist zum Schluß fast völlig aus den Blättern „verdrängt“ und nur noch im Stengel und der Wurzel nachzuweisen.

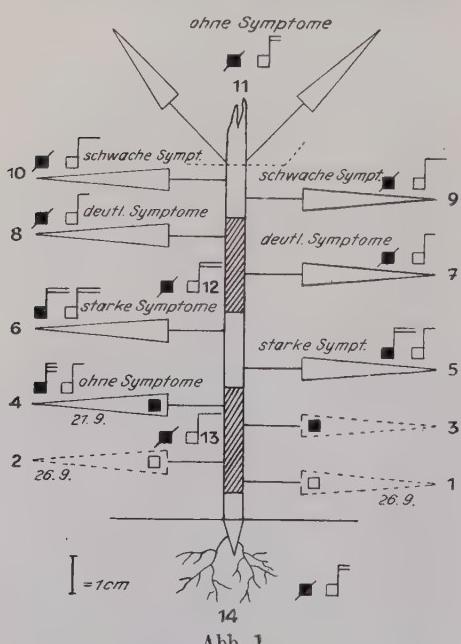


Abb. 1

Schematisierte Tabakpflanze, am 21. September 1944 an zwei Blättern mit Y-Virus GA und am 26. September 1944 an zwei anderen Blättern mit Y-Virus FH infiziert; untersucht am 27. Oktober 1944, also 36 Tage nach Erstinfektion

nachzuweisen, aber fast immer und meist stärker im unteren Stengel und in der Wurzel zu finden.

In Serie IV, bei der die Infektion in umgekehrter Reihenfolge wie in Serie III vorgenommen worden war, ließ sich GA nach 21 Tagen nur in 2 Blättern ganz schwach nachweisen, während FH von den Infektionsherden aus alle Blätter nach oben durchdrungen hatte, schon in der Sproßspitze vorhanden war, sowie in geringen Mengen in den unteren Stengelpartien und in der Wurzel. FH besaß auch nach 29 und 36 Tagen noch das Übergewicht über GA, dann erst änderte sich das Bild wesentlich: GA war nach 43 Tagen

breite als in der Stärke dem FH überlegen. Nach 36 Tagen ist GA in mehr Blättern zu finden als FH, dafür ist FH allein in den Stengeln und der Wurzel vorhanden. Nach 43, 50 und 57 Tagen hat GA an Stärke erheblich zugenommen und FH ist zum Schluß fast völlig aus den Blättern „verdrängt“ und nur noch im Stengel und der Wurzel nachzuweisen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse auch in Serie III, wobei gerade hier zu beachten ist, daß zunächst nur GA in die Pflanze eingebracht wurde und erst 5 Tage später auf die gleichen Blätter FH. Trotzdem zeigt sich bereits bei der ersten analysierten Pflanze eine deutlich schnellere und teilweise auch stärkere Ausbreitung des erst nachträglich eingebrachten FH-Virus. Das Übergewicht ist auch nach 29 Tagen noch vorhanden, nach 43 Tagen¹⁾ hat sich dann aber wieder das GA stärker durchgesetzt und behält seine „Vormachtstellung“ bis zum Versuchsende. Das FH ist, wenn überhaupt, nur noch in 1—2 der unteren Blätter

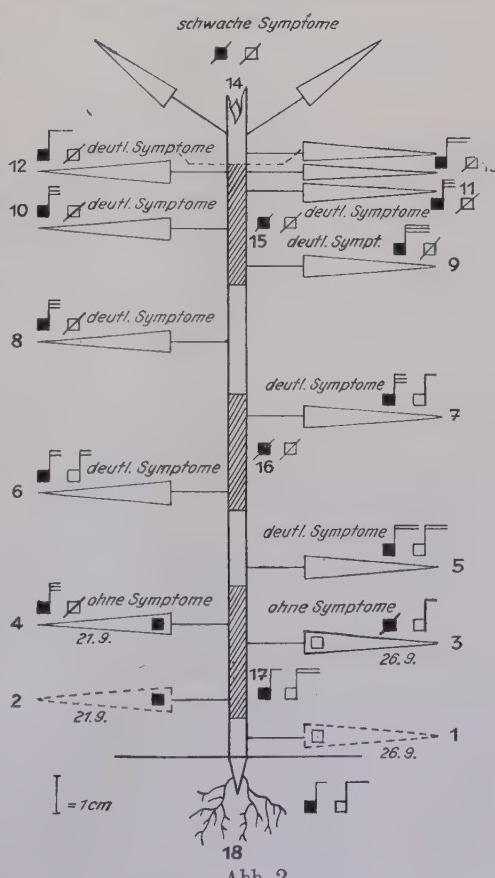
¹⁾ Die nach 36 Tagen analysierte Pflanze ist in ihren Ergebnissen vergleichend schwer auszuwerten, weil die untersten 3 Blätter bereits stark verwelkt waren und das vierte Blatt, obwohl sehr wenig angewelkt, schon unspezifische Reaktionen lieferte. Der Analysenbefund läßt aber erkennen, daß das FH schon nach dieser Zeit im wesentlichen in den unteren Stengelteil und die Wurzel abgewandert war.

in allen Blättern ziemlich stark vertreten, es war weiterhin in der Sproßspitze, dem mittleren und unteren Stengelteil und der Wurzel anwesend; nach 57 Tagen beherrschte GA weitgehend das Feld, FH war nur noch in der Wurzel vertreten.

In Serie V, in der FH 5 Tage nach GA auf je zwei andere Blätter abgerieben worden war, ließ sich trotzdem nach 21 Tagen das FH in den oberen Blättern und im ganzen Stengel nachweisen, GA nur in zwei Blättern, davon war eins noch das eingeriebene. Der „Konkurrenzkampf“ zwischen den beiden Viren dauerte hier länger. Nach 36 Tagen (das sind nur 31 Tage nach der Infektion mit FH) ist FH immer noch wesentlich weiter verbreitet, wenn auch in den Blättern nicht stärker vorhanden als GA (siehe Abb. 1), und erst nach 50 Tagen ist die Überlegenheit von GA eindeutig erreicht (siehe Abb. 2). Nach 57 Tagen ist auch hier das FH nur noch schwach in einem unteren Blatt und stärker im unteren Stengelteil und in der Wurzel zu finden.

In Serie VI, bei der hinsichtlich der Infektion gerade umgekehrt verfahren wurde als bei Serie V, war bemerkenswert, daß die 36 Tage nach der Erstinfektion analysierte Pflanze das FH noch in allen ihren untersuchten Gliedern zeigte, während GA bis dahin nur in den unteren und mittleren Blättern zu finden war (siehe Abb. 3). Trotzdem war schon nach 50 Tagen das GA in allen Blättern bis auf das oberste ziemlich stark vorhanden, FH dagegen schien weitgehend „zurückgedrängt“. Am Versuchsende war FH nur noch schwach in einem unteren Blatt und sonst nur in der Wurzel zu finden und selbst dort nicht mehr stark.

In den Kontrollserien VII und VIII, in denen die Pflanzen nur mit GA bzw. FH allein infiziert worden waren, ließ sich feststellen, daß GA anfänglich, auch wenn es nicht im „Konkurrenzkampf“ stand, sich langsamer ausbreitet als FH, daß es aber unter den angegebenen Versuchsbedingungen seine wesentliche Reaktionsstärke nach etwa 43 Tagen erreicht hat und selbst im obersten Blatt nach dieser Zeit verhältnismäßig



Wie Abb. 1, jedoch erst am 10. November 1944,
also 50 Tage nach Erstinfektion untersucht

stark vorhanden ist. Leider traten in den älteren Kontrollpflanzen von FH Spontaninfektionen mit GA auf (merkwürdigerweise in diesen Versuchen nie umgekehrt). Diese Spontaninfektionen können erst später erfolgt sein, denn die analysierten Pflanzen zeigten bis dahin keinerlei GA-Symptome. Die Fremdinfection trat erstmalig bei einer Pflanze 43 Tage nach der Abreibung mit dem reinen Virus auf. In Abb. 4 ist eine solche spontan infizierte Pflanze ebenfalls in schematisierter Form gebracht. Es war erstaunlich, daß, obwohl

sich das stärkere Vorhandensein von GA in den Blättern nachweisen ließ, die Pflanze keine sichtbaren Befallserscheinungen von GA hatte erkennen lassen¹⁾.

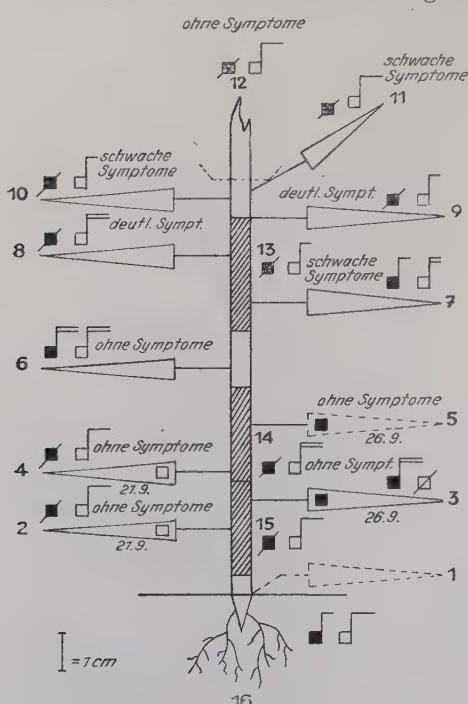


Abb. 3

Schematisierte Tabakpflanze, am 21. September 1944 an zwei Blättern mit Y-Virus FH und am 26. September 1944 an zwei anderen Blättern mit Y-Virus GA infiziert; untersucht am 27. Oktober 1944, also 36 Tage nach Erstinfektion

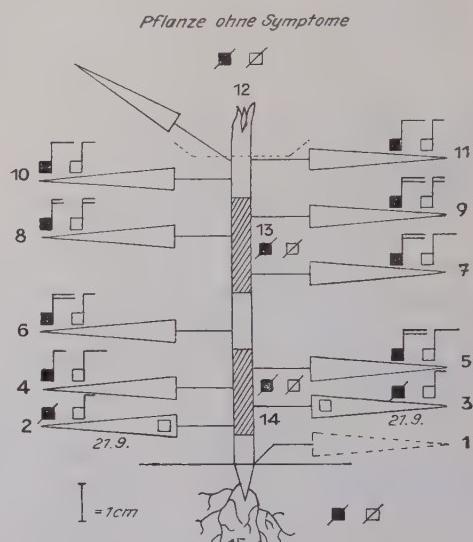


Abb. 4

Schematisierte Tabakpflanze, am 21. September 1944 an zwei Blättern mit Y-Virus FH infiziert. Bei dieser Pflanze trat später eine Spontaninfektion mit Y-Virus GA ein, ohne daß die Pflanze, die am 10. November 1944, also nach 50 Tagen untersucht wurde, zu diesem Zeitpunkt oder auch früher irgendwelche Symptome von Y-Virus äußerlich an den Blättern erkennen ließ.

¹⁾ Auch bei den vorliegenden Untersuchungen hatte sich wieder gezeigt, daß aus dem Symptombild der Blätter nicht auf das Vorhandensein und die Stärke des GA-Virus in den betreffenden Blättern irgendwelche sicheren Schlüsse zulässig sind. Es muß in diesem Zusammenhang berichtet werden, was in einer früheren Arbeit von uns (12) über die Resährschen Schlüsse bezügl. des Auftretens und der Ursache der Symptombildung gesagt wurde. Resähr (7) sieht nicht die Möglichkeit einer Virusschädigung in den „wilden Gerbstoffen“, sondern vertritt folgende Ansicht: Sofern die Symptombildung nicht auf neu entstandene Gerbstoffe oder Gerbstoffverwandte zurückgeführt werden kann, würde gegebenenfalls ein Teil der bereits vorhandenen Gerbstoffe bzw. Gerbstoffderivate durch die Wirksamkeit des Virus der normalen Ordnung im chemischen Geschehen der Zelle entzogen. In dieser Hinsicht spricht Resähr von „wilden Gerbstoffen“.

Diese Befunde sprechen demnach eindeutig dafür, daß das FH, sofern es mit GA zeitlich zusammen bzw. in nur kurzen Zwischenräumen in die Tabakpflanze hineingelangt, sich zunächst ungestört behauptet, dann aber langsam von GA aus den Blättern der Pflanze „verdrängt“ wird und sich schließlich im wesentlichen nur noch in dem unteren Stengelteil und der Wurzel behaupten kann. Es ist möglich, daß zunächst ein Teil des FH auch in den Blättern abgebaut oder wenigstens in seiner chemischen Konstitution geändert wird, denn von einer quantitativen Verdrängung kann nicht gesprochen werden, sonst müßte dieses Virus schließlich im unteren Stengelteil bzw. der Wurzel stets in erheblich stärkerer Konzentration zu finden sein, was aber nicht der Fall war.

Zusammenfassung

Es wird der Nachweis erbracht, daß in deutschen Kartoffelsorten zwei serologisch scharf zu trennende Y-Viren vorkommen. Das in den Y-Trägern „Rote Mäuse“ und „Tannenzapfen“ enthaltene Y-Virus ist serologisch identisch mit dem GA-Virus von Köhler und allen anderen von diesem Autor bisher isolierten Y-Stämmen. Dagegen gehört ein in der Kartoffelsorte „Frühe Hörnchen“ vorkommendes Y-Virus einer serologisch selbständigen Y-Virusgruppe an.

Sofern Vertreter dieser beiden serologisch differenten Y-Virusgruppen gleichzeitig oder in zeitlich nicht allzugroßen Abständen in junge Tabakpflanzen der Sorte Samsun Bashi Bagli eingebracht werden, verbreitet sich das Y-Virus aus „Frühe Hörnchen“ zunächst in den Pflanzen schneller als das Virus der anderen Gruppe, hier GA; dann aber setzt die Verseuchung von GA stärker ein und am Versuchsende — nach 57 Tagen — findet sich in allen Versuchsserien das FH-Virus fast nur noch im unteren Stengelteil und in der Wurzel der Tabakpflanzen; aus allen oder fast allen Blättern ist es „verdrängt“, während sich GA in allen oder fast allen Blättern nach dieser Zeit behauptet.

Schrifttum

- 1 Chester, K. S. Separation and analysis of virus strains by means of precipitin tests. *Phytopathology* **26**, 778–785, 1936.
- 2 Köhler, E. Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel. I. Versuche mit Viren aus der Mosaikgruppe. *Phytopath. Zeitschr.* **5**, 567–591, 1933.
- 3 Köhler, E. Zur Systematik des Kartoffel-X-Virus. *Naturwissenschaft.* **27**, 149, 1939.
- 4 Köhler, E. Weitere Studien über die Viren der Y-Gruppe der Kartoffel. *Phytopath. Zeitschr.* **12**, 480–489, 1940.
- 5 Köhler, E. und Bärner, J. Über den sogenannten latenten Virusbefall in deutschen Kartoffelsorten. *Forschungsdienst* **13**, 14–18, 1942.
- 6 Resühr, B. Zur Chemie der Symptombildung viruskranker Pflanzen. *Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten* **52**, 63–83, 1942.
- 7 Smith, K. M. and Dennis, R. W. G. Some notes on a suspected variant of Solanum virus 2 (potato virus Y). *Ann. appl. Biolog.* **27**, 62–70, 1940, ref. *Zentralbl. f. Bakt. II* **106**, 487, 1944.
- 8 Stapp, C. Über serologische Virusforschung und den diagnostischen Wert serologischer Methoden zum Nachweis der pflanzlichen, insbesondere der am Kartoffelabbau beteiligten Viren. *Journ. f. Landwirtsch.* **39**, 161–188, 1943.

- 9 Stapp, C. Die serologische Virusdiagnose und ihre Bedeutung für den Kartoffelbau. Mitt. a. d. Biol. Reichsanstalt Heft 67, 6—30, Oktober 1943.
- 10 Stapp, C. Bedeutung und Wert der serologischen Virusdiagnose für die Kartoffelzüchtung. Der Züchter **15**, 184—187, 1943.
- 11 Stapp, C. und Berckes, R. Zur Frage des serologischen Nachweises von Kartoffelviren. Arb. a. d. Biol. Reichsanstalt f. Land- u. Forstwirtsch. **23**, 21—30, 1939/40.
- 12 Stapp, C. und Marcus, O. Serologische Untersuchungen am Tabak über Ausbreitung und Verteilung der 3 Kartoffelviren X, Y und A. Zentralbl. f. Bakt. II **105**, 369—405, 1942/43.
- 13 Stapp, C. und Marcus, O. Beiträge zur weiteren Vereinfachung der serologischen Virusdiagnose. Zentralbl. f. Bakt. II **106**, 465—471, 1944.



Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule
in Zürich

Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken

Von

Ernst Gäumann und Otto Jaag

Bei einer Reihe von infektiösen Welkekrankheiten wird der Welkeeffekt **toxigen** ausgelöst: der Erreger läßt in den Saftstrom der Wirtspflanze spezifische Welketoxine (bis jetzt sind als solche Peptide und Chinone bekannt) überreten, die unter Umständen an weit entfernter Stelle den Welkeeffekt bewirken. Als Modellbeispiel für die Peptide wurde bis jetzt das Lycopersicomin, als Modellbeispiel für die Chinone das Patulin, ein Antibioticum, durchgearbeitet (Gäumann und Jaag 1946, 1947, Gäumann 1948, 1949).

Nun weisen Hodgson, Riker und Peterson (1945, 1947), Hodgson, Peterson und Riker (1949) und McIntire, Peterson und Riker (1942) darauf hin, daß es neben diesem **toxischen** Welken auch noch ein parasitogen bedingtes **physikalisches** Welken geben könne; denn sie isolierten aus Kulturen von *Phytomonas tumefaciens* ein Glukosan mit einem Molekulargewicht von ungefähr 3600, stellten abgeschnittene Tomatensprosse in eine 0,4 prozent. Lösung dieses Glukosans und beobachteten, daß das Glukosan mit dem Saftstrom bis in die Blattspreiten verfrachtet wurde und dort ein charakteristisches Welken, vorwiegend der Fiederblättchen, auslöste. Sie nehmen an, daß es sich dabei um eine Verstopfung der Wasserleitungsbahnen, insbesondere der Gefäße in den letzten Nervenverzweigungen der Fiederblättchen, handle.

Es ist somit möglich, daß ein in den Wurzeln oder in der Stengelbasis einer Wirtspflanze wuchernder Erreger bestimmte chemisch inaktive Kohlehydrate in den Saftstrom des Wirtes hinaustreten läßt und mit ihrer Hilfe auf rein **physikalischem** Wege durch Verstopfung der Wasser-

leitungsbahnen einen Welkeeffekt hervorruft. In einem ähnlichen Sinne nimmt Diamond (1947) an, daß beim Ulmensterben, verursacht durch *Ophiostoma ulmi*, eine noch nicht näher definierte toxisch wirkende Komponente, welche z. B. Nekrosen hervorruft, und ein physikalisch wirkendes Polysaccharid, das z. B. ein Einrollen der Blattspitzen auslöst, zusammenwirken. Auch Thomas (1949) fand ein welkeauslösendes Polysaccharid in der Kulturflüssigkeit von *Fusarium solani* f. *Eumartii*.

Da das spezielle *tumefaciens*-Glukosan nur in geringen Mengen und nur mit großer Mühe beschafft werden kann, suchten Hodgson, Peterson und Riker nach leichter zugänglichen Modellbeispielen und stellten fest, daß alle möglichen hochmolekularen Substanzen in den Gefäßen von abgeschnittenen Tomatensprossen hochgetragen werden und dann auf physikalischen Wege einen Welkeeffekt auslösen; dabei nimmt die Toxizität im allgemeinen mit dem Molekulargewicht zu.

Das Welkebild ist je nach der Substanz verschieden. Das *tumefaciens*-Glukosan, ferner Inulin, Carbowachse, Polyvinylalkohole bis zum Molekulargewicht von etwa 40 000 usw. erzeugen ein Welkebild, das einigermaßen an unsere Lycomarasminwelke erinnert: in erster Linie werden die Fiederblättchen geschädigt, und die Blattstiele und Stengel bleiben zunächst noch turgeszent. Xylan, Pektine und Agar, ferner ein Polyvinylalkohol vom Molekulargewicht von rund 52 000 verursachen dagegen ein allgemeines Welken, das in seinem Ablauf an unsere Patulinwelke erinnert: zuerst werden die Blattstiele und erst dann die Fiederblättchen und die Stengel schlaff und hängen hernieder.

Es schien uns nun wichtig zu sein, den Verlauf eines derartigen physikalisch induzierten Welkevorganges in der gleichen Weise zu verfolgen, wie wir dies früher für das toxogene Welken durchführten. Nur durch eine Analyse der Wasserbilanz welkender Pflanzen, ferner durch eine Bestimmung der Toxizitätsschwelle usw. dürfte es möglich sein, die eventuell zwischen dem toxigenen und dem physikalischen Welken bestehenden Unterschiede schärfer herauszuarbeiten; und zwar wählten wir als Modellbeispiel das Inulin, da sein Molekulargewicht (rund 5000) demjenigen des *tumefaciens*-Glukosans verhältnismäßig nahekommt. Die Versuchsbedingungen sind dieselben wie in unseren Arbeiten von 1946 und 1947. Wir besprechen, wie dort, für jede Verdünnungsstufe nur ein einziges Beispiel.

1. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im Licht, wenn statt Wasser dauernd Inulinlösung in der Konzentration von 10^{-3} molar nachgeschoben wird? Diese Verdünnung von 10^{-3} molar entspricht ungefähr der Konzentration, mit der Hodgson, Riker und Peterson gearbeitet haben (0,4 %).

Die hier zu besprechende Versuchspflanze war rund 30 cm hoch und besaß, außer dem Wipfel, vier Blätter. Gesamte Blattfläche (einfach gerechnet) 4,1 dm²; Stengel und Blattstiele 0,9 dm². Frischgewicht vor Beginn der

Akklimatisierung 24,85 g. Lufttemperatur 23,0—23,3°C; rel. Feuchtigkeit 55%. Zehn Fluoreszenzlampen.

Nach Abschluß der Akklimatisationsperiode wurde die Pflanze in die Inulinlösung gestellt. Die Wasseraufnahme und Wasserabgabe (Abb. 1) gingen erst steil, dann langsam zurück und fielen im Verlauf von 17 Stunden auf etwa 6—12% ihres ursprünglichen Wertes. Da beide Werte ungefähr im gleichen Ausmaß sanken, nahm das Gesamtfrischgewicht des Sprosses nur unerheblich ab.

Die Pflanze wurde insgesamt während 48 Stunden in der Inulinlösung belassen; sie sah nach Ablauf dieser Frist etwas matter aus, zeigte aber noch keine manifesten Schädigungen. Wasseraufnahme und Wasserabgabe blieben die ganze Zeit über konstant auf dem niederen Niveau stehen. In dieser Zeit hatte der Sproß 63,5 mg Inulin bzw. 2,553 g Inulin je Kilogramm Frischgewicht aufgenommen.

Nun wurde die Pflanze in Leitungswasser zurückgebracht, um die Reversibilität der Drosselung des Wasserumsatzes zu prüfen. Während der folgenden 17 Stunden verharrten jedoch Wasseraufnahme und Wasserabgabe auf dem

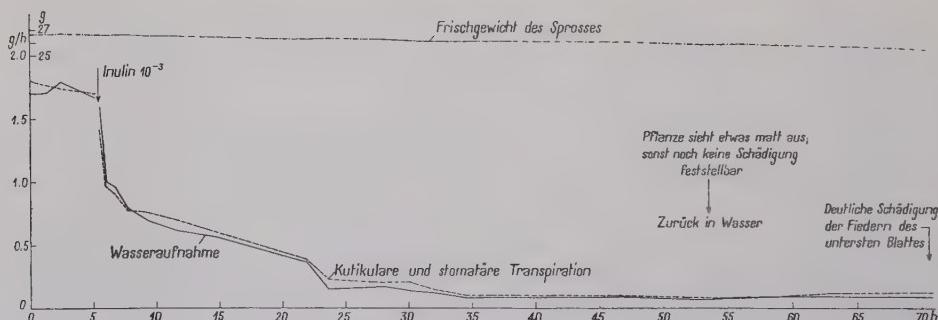


Abb. 1

Der Einfluß einer 10^{-3} molaren Inulinlösung bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Licht. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn. g/h = Wasseraufnahme bzw. -abgabe des gesamten Sprosses in Gramm je Stunde. g = Gesamtfrischgewicht des Sprosses in Gramm

niederen Niveau; ferner begann das unterste Blatt vom Rande der Fiederblättchen her die für das physikalische Welken charakteristische Einrollung, Vergilbung und Verkrümelung zu zeigen. Daraufhin wurde der Versuch aus technischen Gründen abgebrochen. 24 Stunden nach Abbruch zeigten alle Blätter bis und mit dem Wipfelsproß vertrocknende Ränder (Abb. 2); dagegen waren Stengel und Blattstiele noch intakt; ferner hatte der Stengel begonnen, Wasserwurzeln zu treiben.

In anderen Versuchen wurde der abgeschnittene Sproß bis 70 Stunden in der 10^{-3} molaren Inulinlösung belassen (bis die Fiedern des untersten Blattes sich eingerollt hatten). Erst dann wurde die Pflanze in Wasser zurückgebracht; während dieser Zeit hatte sie jeweils etwa 3—3,5 g Inulin je Kilogramm Frischgewicht aufgenommen, und die Wasseraufnahme und Wasserabgabe waren regelmäßig auf etwa 5—15% des ursprünglichen Wertes gesunken; da jedoch der Abstieg der beiden Werte in gleichem Ausmaß

erfolgte, so blieb das Gesamtfrischgewicht stets ungefähr konstant. Der Übergang zurück in Wasser löste in keinem Fall eine Erholung aus, sondern Wasseraufnahme und -abgabe blieben stets, wie in Abb. 1, irreversibel auf dem niederen Niveau stehen.

2. Versuchsreihe

Versuchsfra ge: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im Licht, wenn statt Wasser dauernd eine Inulinlösung in der Konzentration von 10^{-4} molar nachgeschoben wird?

Die hier zu besprechende Versuchspflanze war rund 40 cm hoch und besaß außer dem Wipfel vier Blätter. Gesamtblattfläche, einfach gerechnet, $5,2 \text{ dm}^2$; Stengel und Blattstiele $1,3 \text{ dm}^2$. Frischgewicht vor Beginn der Akklimatisierung 27,3 g. Lufttemperatur 23,0 bis 23,4 °C rel. Feuchtigkeit 55 bis 56 %.

Die Versuchspflanze zeigte, wie üblich, eine anfangs etwas steilere (Abb. 3), dann langsamere Drosselung ihres Wasserumsatzes; nach etwa 36 Stunden war ungefähr der konstante Wert erreicht, der sich etwa auf $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ des ursprünglichen Betrages bewegte;



Abb. 2
Welkebild des im ersten Versuch verwendeten Tomaten-sprosses. Rund $\frac{1}{5}$ nat. Gr. Aufnahme Phot. Inst. E. T. H.

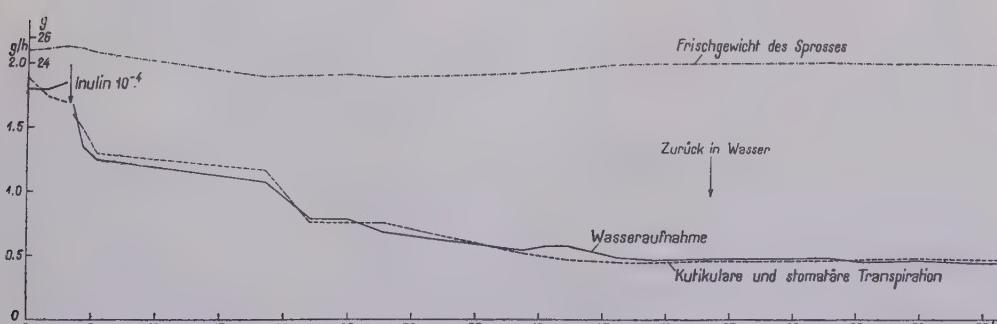


Abb. 3

Der Einfluß einer 10^{-4} molaren Inulinlösung bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Licht. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

die Drosselung des Wasserumsatzes ist also bei der 10^{-4} molaren Inulinlösung erheblich geringer als bei der zehnmal konzentrierteren Lösung der ersten Versuchsreihe.

Im Falle der Abb. 3 war anfänglich die Wasserabgabe etwas größer als die Wasseraufnahme, so daß das Gesamtfrischgewicht des Sprosses vorübergehend absank; dies ist eine Zufälligkeit des betreffenden Versuches; sie trat bei den Parallelversuchen nicht auf.

Nach 50 Stunden wurde der Sproß in Wasser zurückgebracht; er hatte insgesamt 18,3 mg Inulin aufgenommen, das sind 670 mg Inulin je Kilogramm Frischgewicht. Eine Regeneration der Wasseraufnahme und Wasserabgabe trat nach der Rückkehr in Wasser nicht ein. Nach etwa 80 Stunden wurde der Versuch abgebrochen. Um diese Zeit waren erst die Ränder des untersten Fiederblattes verwelkt. Auch 48 Stunden nach Abbruch des Versuches waren die übrigen Blätter noch frisch und unverändert, und die Pflanze trieb Wasserwurzeln.

3. Versuchsreihe

V e r s u c h s f r a g e: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im Licht, wenn statt Wasser dauernd Inulinlösung in der Konzentration von 10^{-5} molar nachgeschoben wird?

Die hier zu besprechende Versuchspflanze war etwa 40 cm hoch und besaß, außer dem Wipfel, vier Blätter. Gesamte Blattfläche, einfach gerechnet, $4,0 \text{ dm}^2$; Stengel und Blattstiele $1,1 \text{ dm}^2$. Frischgewicht vor Beginn der Akklimatisation 27,15 g. Lufttemperatur $22,8\text{--}23,2^\circ\text{C}$; rel. Feuchtigkeit 55—58%.

Der Übergang von Wasser in die Inulinlösung bewirkte keine erhebliche Drosselung des Wasserumsatzes; im Verlauf von 40 Stunden sank er von rund 1,6 g/h auf rund 1,2 g/h, also auf rund drei Viertel. Nach 48 Stunden wurde die Pflanze in Wasser zurückgebracht; sie hatte während dieser Zeit 3,38 mg Inulin aufgenommen, entsprechend 124,5 mg je Kilogramm Frischgewicht. Sie zeigte keinerlei Krankheitssymptome.

Während der 16 Stunden, da die Versuchspflanze noch in Wasser verblieb, verharrte der Wasserumsatz auf dem bisherigen niederen Niveau und kehrte somit nicht zum normalen Zustand zurück; die Drosselung war also auch hier irreversibel. Äußere Schädigungen wurden an der Versuchspflanze nicht sichtbar, auch nicht in den 48 Stunden nach Abbruch des Versuches.

Unsere Untersuchungen bestätigen somit die Erfahrungen von Hodgson, Riker und Peterson, wonach Glukosane in den Wasserleitungsbahnen von Tomatensprossen hochgezogen werden und in den peripheren Partien der Fiederblättchen irreversible charakteristische Vertrocknungserscheinungen auslösen. Sie zeigen ferner (Tabelle 1):

1. daß der Welkeeffekt des Inulins mit abnehmender Konzentration rasch abnimmt, wobei die Wirksamkeitsgrenze bei dauerndem Inulin-nachsuh ungefähr bei der Verdünnung von 10^{-4} molar liegt; und

2. daß der gesamte Wasserumsatz der Tomatenpflanzen, sowohl die Wasseraufnahme als die Wasserabgabe, durch das Inulin irreversibel

gedrosselt wird, und zwar ungefähr in gleichem Ausmaß, so daß das Gesamtfrischgewicht der Pflanzen ungefähr konstant bleibt. Diese Drosselwirkung nimmt, wie der äußere Welkeeffekt, mit abnehmender Konzentration steil ab; doch erfolgt sie auch noch bei der Verdünnung von 10^{-5} molar, bei der äußerlich keine Symptome einer Schädigung mehr erkennbar sind.

Tabelle 1

Der Einfluß verschieden konzentrierter Inulin-Lösungen bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im Licht

Konzentration	Ausprägung der Symptome	Drosselung des Wasserumsatzes
10^{-3} molar	Charakteristisches Vertrocknen der Blattränder sämtlicher Fiederblättchen nach 3–4 Tagen	Herabsetzung auf 5–15%
10^{-4} molar	Vertrocknen der Fiederblattränder des untersten Laubblattes nach 3–4 Tagen	Herabsetzung auf 25–35%
10^{-5} molar	Keine Symptome	Herabsetzung auf 75%

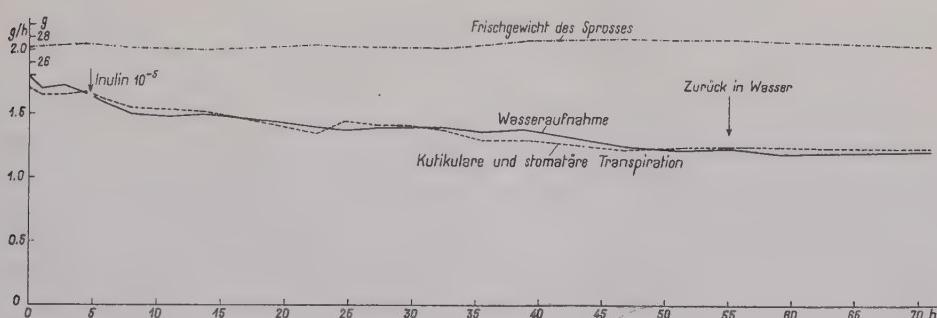


Abb. 4

Der Einfluß einer 10^{-5} molaren Inulinlösung bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Licht. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

Wie verhält sich nun dieses physikalisch induzierte Welken zum toxigenen Welken, das wir in unseren früheren Arbeiten auf Grund von Versuchen mit Lycomarasmin und Patulin beschrieben haben? In drei Punkten, nämlich

1. in der Lokalisierung und Ausprägung des Welkeeffektes;
2. hinsichtlich der Irreversibilität des Welkeeffektes; und
3. hinsichtlich der minimalen Giftkonzentration

besteht zwischen dem toxigenen und dem physikalisch induzierten Welken eine gewisse Übereinstimmung. In vier Punkten, nämlich

4. hinsichtlich des pathologischen Verlaufes des Wasserhaushaltes des Wirtes;
 5. hinsichtlich des Wirkungsmechanismus des pathogenen Agens;
 6. hinsichtlich der dosis minima, und
 7. hinsichtlich der Spezifität des Wirtsspektrums
- bestehen dagegen zwischen den beiden Welktypen erhebliche Divergenzen.

Tabelle 2

Die Merkmale des pathologischen Wasserhaushaltes in normaler Luftfeuchtigkeit bei den drei besprochenen Welketyphen

Welketypus	Wassernachschub	Wasserabgabe (Kutikulare u. stoma- täre Transpiration)	Gesamtfrischgewicht der Versuchspflanzen
Toxisches Welken	Leicht sinkend infolge Vergiftung der Leitungsbahnen, jedoch an sich hinreichend	Vorübergehend übersteigert, weil durch Giftwirkung das plasmatisch gebundene Wasser aus dem Zellinnern freigesetzt wird	Zur Zeit des pathologischen Wegverlusts der Wasservorräte aus den Geweben vorübergehend fallend
Physikalisch induziertes Welken	Bis auf 10% hinunter gedrosselt infolge mechanischer Verstopfung der Intermizellarräume der Zellwände und infolge mechanischer Verstopfung der äußersten Verzweigungen der Gefäße	Bis auf 10% hinunter gedrosselt infolge mechanischer Verstopfung der Intermizellarräume der Zellwände	Unverändert, weil Wasseraufnahme und Wasserabgabe gleichermaßen gedrosselt werden
Physiologisches Welken	Von seiten der Pflanze her nicht behindert; doch fehlt der Wasservorrat in der Außenwelt	nicht behindert	nimmt dauernd ab

1. Die Lokalisierung und Ausprägung des Welkeeffektes

Was zunächst die Lokalisierung des Welkeeffektes betrifft, so ist dem toxigenen und dem physikalisch induzierten Welken die elektive Schadwirkung gemeinsam. Die Pflanzen werden nicht als Ganzes schlaff und hinfällig, sondern das pathogene Agens zeigt, obschon es durch den ganzen Organismus verschleppt wird, eine bestimmte Prädilektion; es besitzt bevorzugte Orte der Schadwirkung, nämlich (im Falle des Lycomarasmins und des Inulins) die Blattränder und die peripheren Partien der Blattspreite. Man könnte auf den ersten Blick an einen Zusammenhang zwischen diesen Lokalisierungen einerseits mit den Transportwegen des Giftes andererseits denken; doch hält dieser Gedanke einer näheren Prüfung nicht stand; denn andere chemische und physikalische Welkeerreger schädigen in bevorzugter Weise nicht die Blattspreite, sondern z.B. die Blattstiele; es muß also wirklich eine elektive Affinität zwischen den Giften einerseits und den Wirtsgeweben andererseits bestehen.

Auch hinsichtlich der Ausprägung der Krankheitsbilder stimmen das toxogene und das physikalisch induzierte Welken weitgehend miteinander überein: sie lösen ähnliche Krankheitsbilder aus; so findet sich, wie schon in der Einleitung angedeutet wurde, sowohl das Krankheitsbild der Lycomarasminwelke als dasjenige der Patulinwelke bei den verschiedenen Typen des physikalisch induzierten Welkens wieder. Im besonderen zeigt das hier zur Diskussion stehende Inulinwelken eine weitgehende Ähnlichkeit mit dem Krankheitsbild der Lycomarasminwelke.

Bei der Inulinkonzentration von 10^{-3} molar beginnt zuerst die unpaare Endfieder des untersten Blattes sich nach oben einzurollen. Von hier aus schreitet das Einrollen zu beiden Seiten gegen die Basis, d.h. gegen den Stiel der Endfieder, fort. Dann tritt, in derselben Weise fortschreitend, eine Aufhellung der Endfieder und schließlich eine Vergilbung ein. Schließlich ist nur noch die Fiederblattbasis grün.

Unterdessen zeigen auch die übrigen Fiedern des untersten Blattes, in derselben Weise fortschreitend, dieselben Veränderungen; zuerst erkrankt das stengelfernste Fiederpaar und dann das nächstfolgende, bis die Einrollung und Vergilbung das stengelnächste Fiederpaar erreicht hat.

Inzwischen sind die eingerollten Fiederblattränder papieren und brüchig geworden; das Blattgewebe ist also dort abgestorben.

Zwei bis drei Stunden nach dem Auftreten der ersten Symptome am untersten Blatt zeigen sich solche auch am zweiten, dann am dritten Blatt. Die Reihenfolge der Veränderungen ist stets dieselbe. Aber je jünger die Blätter sind, d.h. je höher sie am Stengel stehen, um so schwächer sind die pathologischen Veränderungen, und vom vierten Blatt an (d.h. das 4., 5. und eventuell das 6. unterste Blatt) zeigen nur noch das Rollen der Fiederblattränder. Das Vergilben bleibt aus; die Fiederblattränder werden zwar schlaff, aber nicht spröde, nicht brüchig.

Die jüngsten Blätter, die sich im Laufe des Versuches aus dem Wipfelsproß entfalten, zeigen nur noch an ihrer terminalen Blattfieder eine Rollung der Ränder; im übrigen sind diese Blätter frisch, intakt, turgeszent, und sie wachsen ungehindert weiter. Während des Versuches kann der Sproß auch blühen und kleine Früchte ansetzen, die sich bis zu haselnußgroßen, normal aussehenden Tomaten entwickeln.

Stengel, Blattstiele und Fiederblattstiele bleiben steif, turgeszent, in der Farbe unverändert; die pathologischen Veränderungen beschränken sich also auf die Fiederblättchen.

Bei der Inulinkonzentration von 10^{-4} molar sind die Krankheitssymptome insofern etwas anders beschaffen, als die Vergilbung der Blattspreite nicht vom Fiederblattrand nach innen fortschreitet, sondern im Gegenteil von den zentralen Partien des Fiederblattes ausgeht und von hier bis zum Rande hinaus um sich greift; diese Vergilbung entspricht einer Zerstörung des Chlorophylls.

Wenn das Blattgewebe abstirbt, so entstehen dementsprechend bei der Inulinkonzentration von 10^{-4} molar die ersten gebräunten Flecken nicht am Fiederblattrand, sondern in den zentralen Partien der Fiederblattspreite, etwa in der Mitte der Zone zwischen Mittelnerv und Fiederblattrand. Das „Rollen“ erfolgt erst, wenn das Blatt vergilbt ist.

Alle diese Symptome sind denjenigen der Lycomarasminwelke sehr ähnlich; aber sie sind nicht mit ihnen identisch. Man glaubt immer wieder, die Inulinwelke visuell von der Lycomarasminwelke unterscheiden zu können; aber die Erscheinungen sind zu komplex und zu sehr schwankend, als

daß man sie sprachlich, ohne ihnen Gewalt anzutun, formulieren könnte. Es handelt sich also zwischen den beiden Krankheitsbildern höchstens um graduelle Unterschiede, nicht um prinzipielle Verschiedenheiten.

Diese Ähnlichkeit der beiden Krankheitsbilder kann nicht überraschen, sind doch im Pflanzenreich die morphologisch-anatomischen Manifestationen der Erkrankung ganz allgemein wenig spezifisch (Gäumann 1946, S. 524). Man darf deshalb aus diesen Phänkopien auch keine Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus des pathogenen Agens ziehen.

2. Die Irreversibilität des Welkeeffektes

Sowohl das toxogene als das physikalisch induzierte Welken sind nach dem Überschreiten einer bestimmten Wirkungsschwelle irreversibel: Werden welkende Pflanzen aus der Giftlösung in Wasser oder in eine Nährlösung zurückgebracht, so welken sie weiter und erholen sich nicht mehr.

Es bestehen zwar Angaben in der Literatur (so von Gottlieb 1944), wonach toxische welkende Tomatenpflanzen neue, nicht welkende Seitenzweige gebildet haben, welche gesund weiterwachsen. Wir möchten diese Angaben nicht bezweifeln und glauben sogar, eine Erklärung für diese aus der Reihe fallende Erscheinung zu besitzen.

Nach unveröffentlichten Untersuchungen von G. Miescher über die Patulinwelke reagiert das Patulin im Innern der Wirtspflanzen vor allem mit den Sulphydrylgruppen, ähnlich wie dies Cavallito und Bailey (1944), Cavallito und Haskell (1945), Geiger (1947) und Geiger und Conn (1945) für den antibiotischen Effekt des Patulins wahrscheinlich gemacht haben. In den aus den Versuchspflanzen gewonnenen Pressäften nimmt deshalb der Gehalt an freien SH-Gruppen mit steigender Patulinaufnahme ab; zum mindesten ein Teil der Giftwirkung des Patulins dürfte also auf eben dieser Blockierung der SH-Gruppen beruhen. Umgekehrt wird das Patulin auch seinerseits in der Wirtspflanze durch die SH-Gruppen usw. inaktiviert, so daß bis zur Überschreitung eines bestimmten Schwellenwertes (Sättigungswertes) in den Pressäften kein freies, aktives Patulin mehr nachzuweisen ist. Dieser Nachweis wird erst möglich, wenn in den Pflanzen ein Überschuß an Patulin besteht.

Das toxogene Welken der Wirtspflanzen beginnt jedoch lange bevor der Schwellenwert, wo ein Überschuß an Patulin entsteht, erreicht ist; er beginnt schon, wenn sich in den Pressäften noch lange kein freies, überschüssiges Patulin nachweisen läßt. Da somit unterhalb des Absättigungsschwellenwertes sämtliches Patulin durch die Pflanze inaktiviert wird, so kann es geschehen, daß in einer welkenden Pflanze eine Basalknospe, die zufällig nur von einer geringen, inaktivierbaren Toxinmenge erreicht wurde, wieder ausschlagen kann, falls keine neue Toxinproduktion und kein Toxinnachschnitt erfolgt.

Was hier durch Miescher am Modellbeispiel des Patulins gezeigt wurde, dürfte mutatis mutandis auch für andere Welketoxine gelten; so ist auch beim Lycomarasmin eine Inaktivierung *in vivo* und dadurch eine Ent-

giftung der Wirtsgewebe möglich. Wooley und seine Mitarbeiter (Wooley 1941, 1946, 1948, 1949; Wooley und Prince 1945; Prince und Wooley 1944, 1945) haben nämlich gezeigt, daß einerseits das Lycomarasmin einen hemmenden Einfluß auf das Strepogenin ausübt, das ist ein durch tryptische Verdauung von Eiweiß gewonnener Wuchsstoff des *Lactobacillus casei* (es wirkt somit als Antivitamin), und daß andererseits das Lycomarasmin durch kleinste Mengen von Strepogenin, also durch einen Wuchsstoff, inaktiviert wird; da Lycomarasmin Asparaginsäure, Strepogenin wahrscheinlich Glutaminsäure enthält, so wird vermutet, daß der Antagonismus auf einer ähnlichen Bindungsweise der beiden Aminosäuren in den beiden biologisch aktiven Stoffen beruhe.

Ob Tomatenpflanzen Strepogenin enthalten, entzieht sich unserer Kenntnis; aber wir können uns vorstellen, daß in den fraglichen Knospen eine ähnliche Blockierung des Lycomarasmns und eine ähnliche Entgiftung der Gewebe auch durch andere Substanzen als Strepogenin, vielleicht sogar durch Wuchsstoffe (wie ja Strepogenin einer ist) erfolgen kann.

Beim Ausschlagen von toxigen welkenden Tomatenpflanzen handelt es sich also nicht in erster Linie um ein Problem der Reversibilität; denn die Triebe, die vom Toxin getroffen wurden und welkten, bleiben irreversibel welk und sterben ab; sondern es handelt sich offenbar um ein Problem der Generalisation des Toxines: solange das Toxin in der Pflanze in einer unterschwelligen Menge vorhanden ist, kann es geschehen, daß gewisse Gewebepartien von ihm nur in einer Konzentration, in der das Toxin noch unschädlich gemacht (inaktiviert) werden kann, erreicht werden und deshalb keine irreversiblen Schädigungen erfahren. Trotz dieses Sonderfalles sind jedoch das toxogene und das physikalisch induzierte Welken nach dem Überschreiten einer bestimmten Wirkungsschwelle im Prinzip irreversibel.

Diese prinzipielle Irreversibilität unterscheidet andererseits das toxogene und das physikalisch induzierte Welken vom physiologischen Welken, das ist vom Welken infolge Wassermangel, bei dem der ursprüngliche Zustand der Versuchspflanze innerhalb eines weiten Spannraumes durch erneute Zufuhr von Wasser wieder hergestellt werden kann. Das physiologische Welken ist also (bis zum Überschreiten eines fernliegenden Schwellenwertes) im Prinzip reversibel.

3. Die minimale Giftkonzentration

Sowohl beim toxigenen als beim physikalisch induzierten Welken ist das pathogene Agens in ähnlicher Konzentration wirksam; die Wirkungsschwelle für die Konzentration liegt also bei beiden Stoffgruppen ungefähr gleich hoch; so lösen das Lycomarasmin und das Patulin als Beispiele des toxigenen Welkens und das Inulin als Beispiel des physikalisch induzierten Welkens in der Konzentration von 10^{-3} molar heftige Symptome aus, in der Konzentration von 10^{-4} molar nur noch schwache Symptome, und in der Konzentration von 10^{-5} molar sind sie nur noch physiologisch wirksam, verursachen aber in der Regel keine visuellen Symptome mehr.

Es würde über den Rahmen der vorliegenden Arbeit hinausgehen, beim toxigenen Welken das Problem der wirksamen Giftkonzentration und das Problem der wirksamen Giftmenge gegeneinander abzugrenzen; wir hoffen, dies später an anderer Stelle zu tun. Auch die medizinische Toxikologie kennt ja Beispiele, bei welchen die *dosis minima* mit steigender Giftkonzentration (infolge Massenwirkung?) abnimmt. Bei den pflanzlichen Welkerkrankheiten treten zu diesem toxikologischen Problem noch Komplikationen hinzu, die mit den anatomischen Besonderheiten des pflanzlichen Körpers und mit versuchstechnischen Begrenzungen infolge der beschränkten Lebensdauer abgeschnittener Pflanzenprosse zusammenhängen; so sterben die Leitungsbahnen der Pflanzen bei zu hoher Giftkonzentration vorweg ab; das Toxin wird infolgedessen nur ungenügend aufgenommen und überdies in den Trieben nicht mehr gleichmäßig verteilt; anderseits nehmen die Pflanzen bei zu schwacher Giftkonzentration innerhalb der versuchstechnisch möglichen Zeit nicht genügend Lösung auf.

Es ist uns deshalb zur Zeit nicht möglich, aus der Tatsache, daß beim toxigenen und beim physikalisch induzierten Welken dieselben Giftkonzentrationen wirksam sind, einen Schluß zu ziehen.

Bis hierher stimmen die Besonderheiten des toxigenen und des physikalisch induzierten Welkens in großen Zügen überein. In den nunmehr zu besprechenden vier weiteren Punkten bestehen dagegen zwischen den beiden Welketypen wesentliche, und zum Teil grundsätzliche Verschiedenheiten.

4. Der Einfluß des pathogenen Agens auf den Wasserhaushalt des Wirtes

Hier ist zu unterscheiden zwischen dem Verhalten bei normaler Luftfeuchtigkeit (50—70%) und dem Verhalten in einer mit Feuchtigkeit nahezu gesättigten Atmosphäre (93—95%), in der nur noch eine geringe Transpiration möglich ist.

Im übrigen verhalten sich die bis jetzt als Welkegifte untersuchten Peptide und Chinone in ihrer Einwirkung auf den Wasserhaushalt des Wirtes unter sich gleich. Wir kennen also bis jetzt hinsichtlich der Störung des Wasserhaushaltes noch keine Differenzierung zwischen den verschiedenen Welkegiften und können deshalb „das“ toxogene Welken „dem“ physikalisch induzierten Welken gegenüberstellen.

A. Normale Luftfeuchtigkeit (50—70%)

Zwei Merkmale charakterisieren bei normaler Luftfeuchtigkeit den pathologischen Verlauf des Wasserhaushaltes beim toxigenen Welken (Gäumann und Jaag 1947), nämlich der Schockeffekt und die nachfolgende vorübergehende starke Übersteigerung der Wasserabgabe nach Ablauf der Schockphase.

a) Der Schockeffekt

Unmittelbar nach Zugabe des Welkegiftes sinken beim toxigenen Welken sowohl die Wasseraufnahme als die Wasserabgabe (das ist die kutikulare und

die stomatäre Transpiration) steil ab, und zwar beide in einem ähnlichen Ausmaß, so daß das Gesamtfrischgewicht der Versuchspflanzen nicht merklich beeinflußt wird. Diese Schockwirkung dauert etwa drei Stunden und dürfte mit dem Zeitabschnitt zusammenfallen, in welchem das Welkegift in die Protoplasten der Gewebezellen eintritt. Die Dauer der Schockwirkung ist von der Giftkonzentration unabhängig; dagegen steht das Ausmaß des Schockes in einer gewissen Beziehung zur Konzentration des Giftes; so wird der Wasserumsatz von Tomatenpflanzen durch 10^{-2} molares Lycomarasmin vorübergehend auf etwa ein Drittel hinuntergedrosselt, durch 10^{-3} molares Lycomarasmin dagegen nur noch auf etwa zwei Drittel.

b) Die vorübergehende starke Übersteigerung der Wasserabgabe nach Ablauf der Schockphase

Im Anschluß an die Schockphase nehmen beim toxigenen Welken die Wasseraufnahme und die Wasserabgabe wieder zu; doch steigt die Wasserabgabe vorübergehend bis um rund 50 % über die gleichzeitige Wasseraufnahme hinaus; somit erfolgt in den transpirationsnahen Blattgeweben ein vorübergehendes Überangebot an Feuchtigkeit, nämlich an Plasmawasser, das durch das Welkegift im Zellinnern freigesetzt wurde und nunmehr wegtranspiriert wird.

Nach dem Überschreiten des Paroxysmus sinken sowohl die Wasseraufnahme als die Wasserabgabe beim toxigenen Welken dauernd ab, und es treten nach einer gewissen Zeit, unabhängig vom Stand des Wasserhaushaltes, die Welkesymptome und später der Zusammenbruch der Pflanze ein.

Die Tatsache, daß nach dem Überschreiten des Paroxysmus die Wasseraufnahme trotz unbehinderter Wasserversorgung mit der Zunahme der Vergiftung dauernd sinkt, läßt überdies vermuten, daß das Wasser im Innern der Pflanze nicht nur durch den Kohäsionszug hochgehoben wird, sondern daß dabei überdies auch eine aktive Mitarbeit der Gefäße und der Parenchymzellen geleistet wird, welcher aktive Anteil nunmehr infolge Vergiftung der betreffenden Plasmakörper ausbleibt.

Beim physikalisch induzierten Welken rollt der pathologische Verlauf des Wasserhaushaltes bei normaler Luftfeuchtigkeit erheblich anders ab. Hier fehlt der Schockeffekt und fehlt die vorübergehende starke Übersteigerung der Wasserabgabe nach Ablauf der Schockphase; sondern der Übergang vom Wasser in das pathogene Agens löst bloß eine allgemeine Drosselung des Wasserhaushaltes, und zwar sowohl der Wasseraufnahme als der Wasserabgabe aus, jedoch keine Störungen des Wasserumsatzes, die einen komplizierten Eingriff in das Transpirationsgeschehen vermuten ließen.

Wegen dieser gleichmäßigen Drosselung der Wasserzufuhr und der Wasserabgabe bleibt sich das Gesamtfrischgewicht der Versuchspflanzen vom Anfang bis zum Schluß des Versuches gleich, während es beim toxigenen Welken als Folge der vorübergehenden Übersteigerung der Wasserabgabe zur Zeit des Paroxysmus deutlich abnimmt.

Diese Besonderheit des physikalisch induzierten Welkens, daß die gesamte Pflanze in paralleler Weise weniger Wasser aufnimmt und weniger Wasser abgibt, unterscheidet das physikalisch induzierte Welken vom physiologischen Welken, d. h. vom Welken infolge Wassermangel. Beim physiologischen Welken bleibt nämlich die Wasserabgabe im Prinzip gleich groß, und sie nimmt im Laufe der Zeit nur deshalb ab, weil aus Gründen der Umwelt kein Wassernachschub mehr erfolgt und weil infolgedessen die Wasserreserven schwinden. Beim physikalisch induzierten Welken blockiert dagegen das pathogene Agens nicht nur die Wasser auf n a h m e (was an sich ohne weiteres verständlich wäre), sondern auch die Wasser a b g a b e; über diesen letzteren Punkt wird sogleich unter 5.) beim Wirkungsmechanismus der pathogenen Agenzien noch zu sprechen sein.

Der pathologische Wasserhaushalt des toxigenen, des physikalisch induzierten und des physiologischen Welkens in normaler Luftfeuchtigkeit läßt sich deshalb in einer Weise differenzieren, wie es in Tabelle 2 stichwortartig versucht wurde; dabei werden kausale Betrachtungen mit eingeflochten, die erst im nächsten Abschnitt zur Sprache kommen.

B. Extrem hohe Luftfeuchtigkeit (rund 95%)

Bei der relativen Luftfeuchtigkeit von rund 95% beträgt die Transpiration nur noch etwa 10—25% des für die Luftfeuchtigkeiten von 50—70% ausgewiesenen Betrages. Das Transpirationsverhalten der gesunden und der Versuchspflanzen ist deshalb irgendwie abnormal.

Beim toxigenen Welken im Dunkeln, also bei bloß kutikularer Transpiration, wird der Wasserhaushalt der Wirtspflanze durch die Welkegifte nicht wesentlich beeinflußt. Der Schockeffekt, die anschließende starke Übersteigerung der Wasserabgabe und der spätere Abfall des gesamten Wasserumsatzes (also der Wasseraufnahme und der Wasserabgabe) fehlen; sondern Wasseraufnahme und Wasserabgabe verlaufen nach dem Übergang von Wasser in die Giftlösung im großen und ganzen in ungestörter Weise weiter. Es kann deshalb geschehen, daß die Versuchspflanze im Zeitpunkt der ersten Welkesymptome sogar noch etwas schwerer ist als zu Versuchsbeginn, und daß sie zur Zeit ihres vollkommenen Welkezusammenbruches nur 2—3% ihres ursprünglichen Feuchtigkeitsgehaltes verloren hat. Das toxige Welken bei hoher Luftfeuchtigkeit im Dunkeln erfolgt deshalb ohne eine pathologische Veränderung des Wasserhaushaltes der Wirtspflanze.

Auch beim toxigenen Welken im Licht (also bei kutikularer und stomatärer Transpiration) sind in hoher Luftfeuchtigkeit die beiden Hauptmerkmale, der Schockeffekt und die vorübergehende starke Übersteigerung der Wasserabgabe, nicht zu erkennen, sondern Wasseraufnahme und Wasserabgabe sinken sogleich steil und in gleicher Weise bis zu einem konstanten Wert ab. Das Gesamtfrischgewicht der Versuchspflanzen bleibt sich deshalb ungefähr gleich, und der Welkezusammenbruch tritt wiederum ohne Zusammenhang mit dem Wasserhaushalt der Versuchspflanzen ein.

Beim physikalisch induzierten Welken entspricht der Kurvenverlauf in hoher Luftfeuchtigkeit weitgehend dem atypischen Verhalten, das wir soeben für das toxigene Welken geschildert haben.

Eine hohe Inulinkonzentration (10^{-3} molar; Abb. 5) wirkt bei extrem hoher Luftfeuchtigkeit ähnlich wie die Welketoxine bei hoher Luftfeuchtigkeit

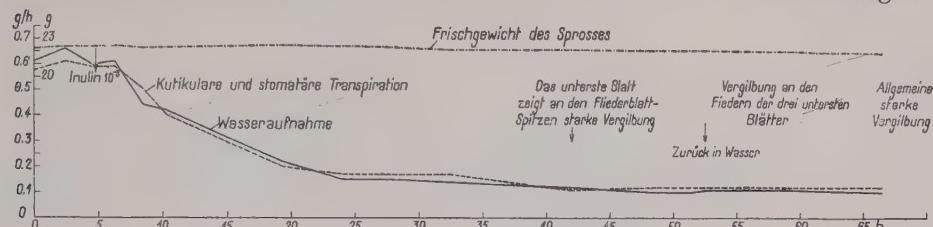


Abb. 5

Der Einfluß einer 10^{-3} molaren Inulinlösung bei extrem hoher Luftfeuchtigkeit auf den Wasserhaushalt der Tomatenpflanzen im Licht (94—97% rel. Feuchtigkeit; 25,0—25,4°; 8 Fluoreszenzlampen)

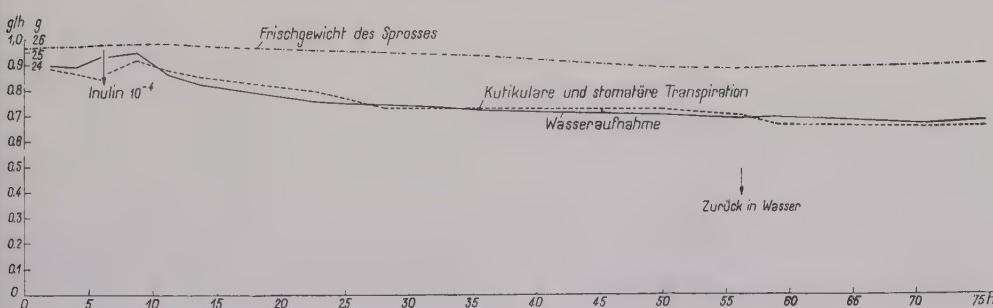


Abb. 6

Der Einfluß einer 10^{-4} molaren Inulinlösung bei extrem hoher Luftfeuchtigkeit auf den Wasserhaushalt der Tomatenpflanzen im Licht (93—97% rel. Feuchtigkeit; 24,9—25,5°; 8 Fluoreszenzlampen)

im Licht: sowohl Wasseraufnahme als Wasserabgabe sinken auf einen konstanten Wert ab. Immerhin nehmen die Pflanzen wegen der hohen Konzentration des Inulins noch recht viel Substanz auf, so daß in Abb. 5 dargestellte Exemplar im ganzen 44,9 mg Inulin, entsprechend 2035 mg Inulin je Kilogramm Lebendgewicht. Schon nach etwa 36 Stunden zeigt deshalb das unterste Blatt an seinen Fiederblattspitzen eine Vergilbung. Im allgemeinen leiden jedoch die Tomatenpflanzen in der 10^{-3} molaren Inulinlösung bei extrem hoher Luftfeuchtigkeit unverhältnismäßig schwer. Sie scheinen durch die gleichzeitige Einwirkung beider Komponenten irgendwie sensibilisiert zu sein und vergilben deshalb ganz allgemein schon nach etwa 60 Stunden. Es handelt sich hier offenbar nicht um eine eigentliche Welkewirkung, sondern um einen Synergismus, den wir jedoch zur Zeit noch nicht zu fassen vermögen.

Eine geringere Inulinkonzentration (10^{-4} molar; Abb. 6) wirkt in extrem hoher Luftfeuchtigkeit ähnlich wie die Welketoxine bei hoher Luftfeuchtigkeit

im Dunkeln: keine Drosselung der Wasseraufnahme und Wasserabgabe und, trotz einer Aufnahme von insgesamt 666 mg Inulin je Kilogramm Frischgewicht im Falle der Abb. 6, keine visuellen Symptome einer Schädigung. Die eben angedeutete Sensibilisierung durch das Zusammenwirken der extrem hohen Luftfeuchtigkeit und der sehr konzentrierten Inulinlösung scheint also durch die Rückkehr zu einer normaleren Inulinkonzentration behoben zu sein.

Zusammenfassend können wir somit feststellen, daß sich das toxigene und das physikalisch induzierte Welken in extrem hoher Luftfeuchtigkeit nicht differenzieren lassen; die Tomatenpflanzen verhalten sich infolge der Wasserstauung irgendwie abnormal und zeigen Nebenwirkungen, die den Haupteffekt zudecken. Die eben unter A geschilderte Scheidung zwischen den beiden Welktypen gilt deshalb ausschließlich für normale Luftfeuchtigkeiten.

5. Der Wirkungsmechanismus des pathogenen Agens

Hinsichtlich ihres Wirkungsmechanismus verhalten sich die pathogenen Agensien des toxigenen und des physikalisch induzierten Welkens vollkommen verschieden.

Beim toxigenen Welken setzt sich der Wirkungsmechanismus der Welketoxine aus mindestens zwei Komponenten zusammen, aus dem Welkeeffekt und aus dem Koagulaseeffekt (Gäumann und Jaag 1947; Gäumann 1948).

A. Der Welkeeffekt

beruht auf einer irreversiblen Schädigung der Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten (siehe z. B. Davson und Danielli 1943). Modellbeispiel: Rote Rüben lassen in Gegenwart von Welketoxinen das Anthocyan ins Freie treten, und zwar mit steigender Konzentration in steigendem Maße (Gäumann, Jaag und Braun 1947; Gäumann und von Arx 1947). Die Semipermeabilität der Vakuolenwand und der Plasmagrenzschicht wird somit durch die Welketoxine derart geschädigt, daß große Molekel wie die Anthocyane den abnormalen Weg ins Freie gehen; in ähnlicher Weise treten zweifelsohne auch die osmotisch wirksamen Zellinhaltstoffe, Salze, Zucker usw., durch die geschädigte Plasmagrenzschicht hindurch in den Transpirationsstrom der Zellwände hinaus und stören hier die osmotischen Voraussetzungen des Turgors. Wenn nämlich dieselben osmotisch wirksamen Substanzen an der Außen- und an der Innenseite der semipermeablen Grenzschicht vorhanden sind und wenn die semipermeable Grenzschicht ihrerseits nicht mehr semipermeabel, sondern holopermeabel ist, dann ist kein Turgor mehr möglich. Diese Störung der osmotischen Voraussetzungen des Turgors bildet die entscheidende Ursache des toxigenen Welkens.

Die Ursachen des Turgorverlustes beim physiologischen und beim toxigenen Welken liegen somit auf einer ganz anderen Ebene. Beim physiologischen Welken wird der Turgorverlust von innen her durch einen Wasserverlust ausgelöst; beim toxigenen Welken wird dagegen der Turgorverlust,

gleichgültig ob ein Wasserverlust erfolgt oder nicht, an der Grenzschicht durch eine Störung des Mechanismus, nämlich der osmotischen Voraussetzungen des Turgors, zuwege gebracht. Durch diese Permeabilitätsstörung erinnert das Lycomarasmin an die Narkotika.

Der toxogene Welkeeffekt hat also mit dem pathologischen Wasserverlust als solchem unmittelbar nichts zu tun. Falls diese Auffassung richtig ist, so muß das toxogene Welken auch dann eintreten können, wenn die Gewebezellen noch prall mit Wasser gesättigt sind. Dies ist tatsächlich der Fall; läßt man nämlich die Tomatenpflanzen, wie soeben unter 4. beschrieben wurde, in einer feuchtigkeitsgesättigten Atmosphäre, wo die Transpiration sehr gering ist, den Welkestoff aufzunehmen, so tritt das pathologische Welken auch ohne Wasserverlust ein.

B. Der Koagulaseeffekt

setzt, im Gegensatz zum Welkeeffekt, nicht in erster Linie bei den Plasmagrenzschichten, sondern beim Plasma selbst ein und wirkt sich dort nach zwei Richtungen hin aus, nämlich a) in einer Befreiung von Mizellar gebundenem Wasser, die zu dem unter 4. geschilderten pathologischen Wasserverlust führt, und b) in einer Aussteifung der Gewebe, die dem Welkevorgang entgegenwirkt (Aussteifungseffekt).

a) Beim pathologischen Wasserverlust

wird die wasserhaltende Kraft des Plasmas geschädigt; infolge dieser Schädigung läßt das Plasma bisher gebundenes Wasser los; das Wasser tritt in den Transpirationsstrom der Zellwände hinaus und führt hier zu einem dauernden Überangebot an Feuchtigkeit, das seinerseits die dauernde Übersteigerung der Transpiration über die Wasseraufnahme hinaus alimentiert.

Dieser pathologische Wasserverlust hat als solcher mit dem pathologischen Welken nichts zu tun, dies im Gegensatz zum physiologischen Welken, das gerade durch einen dezentralen Wasserverlust ausgelöst wird. Die Richtigkeit dieser Auffassung ergibt sich u. a. aus den Versuchen mit niedrigen Toxinkonzentrationen (10^{-4} und 10^{-5} molar), bei welchen nur ein pathologischer Wasserverlust (bis 50%), aber kein Welkeeffekt eintritt.

b) Der Aussteifungseffekt

Mit diesen beiden Komponenten, dem pathologischen Welken ohne Wasserverlust und dem pathologischen Wasserverlust ohne Welken, sind jedoch nur die Grundzüge des toxigenen Welkens erfaßt; das Bild wird überdies kompliziert z. B. durch den Aussteifungseffekt. Die Wasserverlustschwelle, bei der die Erschlaffung der Gewebe eintritt, liegt nämlich beim toxigenen Welken mindestens doppelt so hoch wie beim spontanen physiologischen Welken. Das welkeauslösende Prinzip wirkt also, im scheinbaren Widerspruch zu sich selbst, der Erschlaffung der Gewebe entgegen. Man wird sich wohl vorstellen dürfen, daß diese Aussteifung eine Nebenwirkung der Koagulation des Plasmas darstellt, die sich somit nach zwei verschiedenen Richtungen hin auswirkt, einerseits in der eben geschilderten

Befreiung von mizellar gebundenem Wasser und anderseits in einer Aussteifung der Gewebe, also der Blätter, Blattstiele und Stengel.

Anders beim physikalisch induzierten Welken. Die von Hodgson, Riker und Peterson untersuchten Glukosane sind chemisch inert; so läßt Inulin in der Konzentration von 10^{-3} und 10^{-4} molar, wie wir durch Kontrollversuche feststellten, kein Anthocyan aus den Rübengeweben ins Freie treten, und es übt auch bei *Elodea canadensis* keinen Einfluß auf die Geschwindigkeit der Plasmaprömung aus.

Seine welkeauslösende Wirkung ist somit rein mechanischer Art; sie beruht gewissermaßen auf einer mechanischen Verstopfung der Wasserwege. Hodgson, Riker und Peterson nehmen an, daß vor allem die letzten Verzweigungen der Gefäße verstopft werden; infolgedessen unterbleibt der Wassernachschub und wieder infolgedessen verdorren die Tomatenblätter von den Rändern her. Wir zweifeln nicht daran, daß dieser großräumliche Gefäßverstopfungs-Effekt besteht; nur glauben wir, daß er bloß einen Teil der physiologischen Vorgänge, die sich beim physikalisch induzierten Welken abspielen, erfaßt.

Die Annahme einer Verstopfung der Gefäßbündel vermag zu erklären, warum der Wassernachschub bis auf 10 % hinunter gedrosselt wird. Würde aber das Inulin bloß eine derartige Verstopfung der Gefäße bewirken, so müßte der Wasserhaushalt der Versuchspflanzen beim physikalisch induzierten Welken ein ähnliches Bild zeigen wie bei der grob mechanischen Unterbindung des Wassernachschubes, d. h. wie beim physiologischen Welken infolge Wassermangel (z. B. Gäumann und Jaag, 1947, S. 229 u. f.): die Transpiration müßte trotz ausbleibenden Wassernachsches bis zur Erschöpfung der Feuchtigkeitsvorräte in den Geweben weitergehen.

Das Überraschende beim physikalisch induzierten Welken liegt aber gerade darin, daß durch das Inulin in der ganzen Pflanze die Wasser- aufnahme und die Wasserabgabe gleichzeitig gedrosselt werden: es kann aus der Vorratslösung nur noch ein kleiner Bruchteil des ursprünglichen Wasserbedarfs in die Laubblätter hinaufdringen, und anderseits können zu gleicher Zeit in den Laubblättern auch keine wesentlichen Wassermengen mehr aus den Protoplasten in die Zellwände hinaustreten und durch diese an die Blattoberfläche gelangen, um hier wegtranspiriert zu werden, wie dies beim physiologischen Welken der Fall wäre. Beim physikalisch induzierten Welken wird also nicht nur die Wasserzuleitung gedrosselt, sondern zu gleicher Zeit wird auch das Wasser im Zellinnern blockiert, so daß es trotz Ausbleibens des Wassernachschubes und trotz Wassermangel nicht mehr wegtranspiriert werden kann. Diese sonderbare Situation läßt sich nur erklären, indem man annimmt, daß das pathogene Agens gleichzeitig und in gleicher Weise beide Mechanismen blockiert: es kann sozusagen kein Wasser mehr in die Zellen hinein- und es kann sozusagen kein Wasser mehr aus dem Zellinnern in die Zellwände hinaustreten.

Dies ist nur möglich, wenn in der gesamten Pflanze die Intermizellarräume, das sind die submikroskopischen Kapillaren der Zellwände, abgedichtet, verstopft werden, wodurch die Zellwände ihre Funktion als Wasserleitungsbahnen einbüßen.

Eine derartige mechanische Abdichtung der submikroskopischen Kapillaren in den Zellwänden, gewissermaßen eine submikroskopische Embolie, scheint bei den Glukosanen, die einen Welkeeffekt hervorrufen, auf Grund der Größenverhältnisse ohne weiteres möglich zu sein. Beim Inulin beträgt das Molekulargewicht unter der Annahme, daß es im pflanzlichen Zellsaft unzersetzt bleibt, rund 5000. Die Inulinmolekel ist kugelförmig; ihr Durchmesser beträgt etwa 30 Ångström. Die Dicke ihrer oberflächlichen Wasserschicht kann auf etwa 4 Ångström veranschlagt werden. Die unveränderte Inulinmolekel dürfte deshalb in Wasser einen Durchmesser von etwa 38 Ångström besitzen. Wenn wir überdies annehmen, daß das stark hygroskopische Inulin im Zellsaft noch wesentlich quillt, so gelangen wir zu Durchmessern von 50—100 Ångström. Dies ist jedoch gerade die Größenordnung der Intermizellarräume, die nach unserer Annahme durch das Inulin verstopft werden.

Ähnliche Überlegungen lassen sich bei den übrigen welkeerzeugenden Glukosanen anstellen; nur liegen hier die Verhältnisse weniger einfach, weil wir die Gestalt der Moleküle zum Teil nur ungenügend kennen; so beträgt der Durchmesser eines polymerisierten Vinylalkoholes vom Molekulargewicht von 50000 (falls wir Kugelgestalt annehmen) schätzungsweise 70 Ångström, und etwa $6 \times 6 \times 720$ Ångström unter der Annahme eines extremen Rotationsellipsoides. Wir bleiben also auch hier innerhalb der Dimensionen, die für eine Verstopfung der Intermizellarräume in den Zellwänden und (bei sehr großen Molekülen) für eine Verstopfung der submikroskopischen Räume in den Tüpfelschließhäuten in Betracht kommen.

Diese Abdichtung der Zellwände ist in den pflanzlichen Geweben zweifelsohne viel wirkungsvoller als die bloße Verstopfung der Gefäßbündel, und sie erklärt auch, warum beim physikalisch induzierten Welken, im Gegensatz zum physiologischen Welken, nach dem Ausbleiben des Wassernachsches kein Wasser aus dem Zellinnern in die Zellwände hinaustreten und von dort wegverdunstet werden kann.

Das pathogene Agens greift also nach unserer Auffassung beim toxigenen und beim physikalisch induzierten Welken an ganz unterschiedlicher Stelle an: beim toxigenen Welken wirkt es auf das Plasma, und beim physikalisch induzierten Welken wirkt es auf die Zellwand:

Das toxigene Welken geht mit einer allgemeinen Vergiftung des gesamten Organismus einher. Die Pflanzen gehen (mit Ausnahme der Vegetationsspitze) als Ganzes zugrunde, auch wenn zunächst nur die Gefäßbündel verfärbt werden und nur einige Laubblätter Symptome zeigen. Im besonderen beruht der Welkeeffekt auf einer Schädigung der Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten und infolgedessen auf einer Schädigung

der osmotischen Voraussetzungen des Turgors. Das toxogene Welken erfolgt deshalb unabhängig vom Wasserhaushalt.

Beim physikalisch induzierten Welken gehen dagegen die Pflanzen im Prinzip nicht zugrunde; sie bleiben am Leben und treiben sogar neue Wurzeln. Der Welkeeffekt beruht bloß auf einer mechanischen Verstopfung der Gefäße und der Intermizellarräume der Zellwände; diese werden für Wasser unwegsam; und als Folge dieses Verlustes der Wasserleitfähigkeit der Zellwände sinkt der Wassernachschub und die Wasserabgabe auf einen kleinen Bruchteil hinab. Das physikalisch induzierte Welken erfolgt also, im Gegensatz zum toxigenen Welken, nicht unabhängig vom Wasserhaushalt, sondern infolge einer Blockierung des Wasserhaushaltes, gewissermaßen als ein inneres Verdorren.

6. Die dosis minima

Unter der dosis minima oder der wirksamen Dosis verstehen wir die Giftmenge, die (bei einer bestimmten Konzentration) je Kilogramm Lebendgewicht notwendig ist, um unter bestimmten äußeren Bedingungen ein bestimmtes Ausmaß von irreversiblen Schädigungen, im vorliegenden Falle von irreversiblen Welkesymptomen auszulösen.

Die dosis minima entspricht somit dem Schwellenwert der Giftmenge; dadurch unterscheidet sie sich von der in Abschnitt 3 besprochenen minimalen Konzentration, das ist dem Schwellenwert der Verdünnung. Bei der minimalen Konzentration fragen wir uns: Welches ist die Verdünnung des Giftes, die bei ständigem Nachschub, also bei ständiger Einwirkung und Erneuerung (wie dies bei den natürlichen Infektionen geschieht) noch eben ausreicht, um bestimmte Welkesymptome zu erzeugen. Bei der dosis minima fragen wir uns: Welches ist die Giftmenge, die (in einer bestimmten Konzentration) bei einmaliger Verabreichung noch eben ausreicht, um irreversible Symptome zu erzeugen?

Je nach der Intensität des Krankheitsbildes, die bei diesen Schwellenwertbestimmungen als Vergleichsmaßstab verwendet wird, liegen naturgemäß diese Schwellenwerte an einer etwas andern Stelle. Es ist deshalb notwendig, sich jeweils über den Grad der Ausprägung der Krankheitssymptome, von dem ausgegangen werden soll, zu verständigen. Wenn zwei Toxine dieselben oder ähnliche Krankheitsbilder auslösen, so bietet diese Verständigung keine Schwierigkeiten; wenn dagegen zwei Krankheitsbilder qualitativ stark divergieren, da ist die quantitative Gleichsetzung eines bestimmten Ausprägungsgrades der Symptome weitgehend dem Ermessen des Beobachters anheimgestellt.

Es liegt deshalb in der Natur der Sache, daß die wirksamen Dosen bei verschiedenartigen Welkegiften nur cum grano salis vergleichbar sind. Die Medizin kann bei ihren entsprechenden Toxinen einfacher arbeiten; sie stellt auf den Tod des Versuchstieres (also auf einen bestimmten biologischen Grenzwert) ab und spricht dann von der minimalen letalen Dosis (wo der Tod noch eben ausgelöst wird) oder von der mittleren letalen Dosis (wo 50 %

der Versuchstiere eingehen). Die Pflanze ist jedoch nicht eine Ganzheit wie das Tier (sie ist ja auch nie ausgewachsen); sie stirbt deshalb unter der Einwirkung von Giften nicht auf einmal als Individuum, sondern nur eine Anzahl Blätter sterben ab, während der Vegetationspunkt unter Umständen munter weiterwächst. Unsere *dosis minima* ist deshalb in ihrer Art auch eine *dosis letalis minima*, nur übertragen auf die pflanzlichen Verhältnisse: nicht das Individuum stirbt, sondern die sensiblen Blätter, das sind die sensiblen Organe, sterben.

Bei der praktischen Bestimmung der *dosis minima* werden zunächst Tastversuche angestellt. Man bestimmt bei frisch abgeschnittenen Tomaten-sprossen das Frischgewicht, stellt sie dann in einen Raum mit konstanter Temperatur (z. B. 23°C), konstanter Feuchtigkeit (ungefähr 55 %) und konstanter Beleuchtung (z. B. 10 Fluoreszenzlampen) in gewogene Fläschchen mit Giftlösung von einer gegebenen Konzentration, beläßt sie dort während 5, 10, 15, 30, 60, 120 usw. Minuten und stellt sie gleich wieder in Wasser zurück. Durch Zurückwägen der Fläschchen wird die aufgenommene Menge Lösung bestimmt; aus dieser läßt sich die je Kilogramm Lebendgewicht aufgenommene Giftmenge berechnen.

Nach einer gewissen Zeit beginnen gewisse Sprosse Symptome von einer bestimmten Ausprägung zu zeigen; daraus läßt sich die ungefähre Lage der *dosis minima* abschätzen. Im Hauptversuch wird dieser Punkt enger eingegabelt, so daß im Rahmen der individuellen Schwankungen (bei einer genügend großen Zahl von Parallelen) gut reproduzierbare Werte herauskommen.

Praktisch geht man bei der Arbeit so vor: Man weiß auf Grund der Vorversuche, daß die *dosis minima* z. B. bei etwa 100—150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Frischgewicht liegt. Man wägt nun für den Hauptversuch die Sprosse, stellt sie in die Giftlösung und rechnet, während der Versuch zu laufen beginnt, aus, welche Menge Lösung bei der gegebenen Konzentration von jedem einzelnen Sproß aufgenommen werden muß, damit er rund 100 oder rund 125 oder rund 150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Frischgewicht aufgenommen hat. An einer rohen Markierung der Versuchsfläschchen oder -röhrchen wird abgelesen, wann dieser Punkt etwa erreicht ist; dann wird der betreffende Sproß in Wasser zurückgestellt, und durch Zurückwägen der Fläschchen wird bestimmt, welche Giftmenge der betreffende Sproß in Wirklichkeit genau aufnahm.

Die Ergebnisse mit Inulin sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Die absolute minimale Dosis, bei der visuelle Symptome eben aufzutreten beginnen, liegt bei der Konzentration von 10^{-3} molar zwischen 438 und 612 mg Inulin je Kilogramm Lebendgewicht, und bei der Konzentration von 10^{-4} molar zwischen 72 und 186 mg.

Die Dosis, bei der sämtliche Fiederblätter der drei untersten Laubblätter eingerollt und geschädigt sind, liegt bei der Konzentration von 10^{-3} molar etwas oberhalb 1590 mg Inulin je Kilogramm Lebendgewicht, und bei der Konzentration von 10^{-4} molar zwischen 1194 und 1761 mg.



Abb. 7

Das Schädigungsbild an einem Tomatenblatt nach Einwirkung der dosis minima (612 mg Inulin je Kilogramm Lebendgewicht in der Konzentration von 10^{-3} molar). *a* Verdornte Blattspitzen. *b* Vergilbte Zone Nat. Gr. Orig. Phot.

Inst. E.T.H.

doch möglich, daß in dem Konzentrationsproblem noch andere Effekte verborgen liegen als nur der Transportverlust.

Wesentlich ist für uns im vorliegenden Zusammenhang, daß bei Tomatensprossen die dosis minima, bei der die Fiedern der drei untersten Laubblätter irreversibel geschädigt werden, in der Nähe von 1600—1700 mg Inulin je Kilogramm Lebendgewicht liegt, es braucht somit mehr als 1,5 g Inulin je Kilogramm Lebendgewicht, um die innere Oberfläche der Versuchspflanzen irreversibel abzudichten.

Beim Lycomarasmin als Beispiel eines welkeauslösenden Peptides liegt bei Tomaten die absolute dosis minima, bei der Symptome noch eben aufzutreten beginnen, nach Versuchen, über die der Erstunterzeichneter demnächst zusammen mit Stephi Naef-Roth und Guido Miescher berichten wird, bei der Konzentration von 10^{-3} molar (ohne Eisen) bei 150—200 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht, und bei Lycomarasmin mit einer äquinolaren Eisenmenge bei 10—15 mg. Der Wert, bei der die drei untersten Laubblätter irreversibel geschädigt werden, liegt etwa doppelt so hoch.

Beide Schwellenwerte liegen also bei der Konzentration von 10^{-3} molar aber etwas höher als bei der Konzentration von 10^{-4} molar: es braucht bei einer stärkeren Inulinkonzentration etwas mehr Substanz, um denselben Effekt hervorzubringen, als bei einer zehnmal schwächeren Konzentration.

Wir vermuten, daß dieses sonderbare Ergebnis mit dem Transportverlust zusammenhängt. Offenbar bleibt bei der stark viskosen 10^{-3} molaren Inulinslösung mehr Substanz während des Aufstieges an den Gefäßwänden usw. haften als bei der zehnmal stärker verdünnten 10^{-4} molaren Lösung und geht dadurch für den schädigenden Effekt in den Blättern verloren. Doch ist anderseits bemerkenswert, daß in der Konzentration von 10^{-5} molar auch dann keine Schädigungen auftreten, wenn 195 mg Inulin je Kilogramm Lebendgewicht aufgenommen werden, also gleich viel mg als bei 10^{-4} molar schon schädigend wirken (mehr als 195 mg Inulin, entsprechend einer Aufnahmzeit von durchschnittlich etwa 120 Stunden, kann man die Tomatensprosse bei der Verdünnung auf 10^{-5} molar nicht aufnehmen lassen, weil sie nach der vier-tägigen Versuchszeit allgemeine Schädigungen zu zeigen beginnen). Es ist also

Tabelle 3

Die Lage der dosis minima bei verschiedenen Inulin konzentrationen

Durchschnittlich aufgenommene Inulimenge in mg je kg Frischgewicht	Durchschnittliche Aufnahmezeit in Stunden	Symptome
	10 ⁻³ molar	
438	1	keine
612	2	Die äußerste Spitze der Endfieder und des äußersten Fiederpaars ist geschädigt. Das absterbende Gewebe wird vom lebenden durch eine vergilbende Zone getrennt (Abb. 7)
1077	12	Die Endfiedern der drei untersten Blätter sind eingerollt und verdorren
1590	15	Endfieder und erstes Fiederpaar der drei untersten Blätter sind eingerollt und vertrocknen
1980	24	Sämtliche Fiederblätter der drei untersten Blätter sind eingerollt und vertrocknen. Am 4. und 5. untersten Blatt sind die Fiederblattspitzen geschädigt
2605	41	Sämtliche fünf Blätter gerollt und verdorrend
	10 ⁻⁴ molar	
72	2	keine
186	5	Endfieder und erstes Fiederpaar des untersten Blattes an der Spitze vergilbend
558	17	Äußere Hälfte der Fiederblättchen des untersten Blattes eingerollt und vertrocknend
604	25	Sämtliche Fiederblättchen des untersten Blattes geschädigt. Beim zweiten Blatt das äußerste Fiederblatt geschädigt
1194	37	Sämtliche Fiederblättchen des untersten und des zweiten Blattes geschädigt. Am dritten Blatt Spreite der Endfieder vergilbend
1761	49	Beim ersten bis dritten Blatt sämtliche Fiedern geschädigt und vergilbend. Beim vierten Blatt die Endfieder vergilbend
	10 ⁻⁵ molar	
57	24	keine
118	50	keine
126	72	keine
195	120	keine

Beim Patulin als Beispiel eines welkeauslösenden Chinons liegt die absolute dosis minima nach Versuchen, über die demnächst G. Miescher berichten wird, bei der Konzentration von 10⁻³ molar bei etwa 20 mg je Kilogramm Lebendgewicht, und der Wert für die irreversible Schädigung der drei untersten Laubblätter liegt bei etwa 40 mg.

Die für die irreversible Schädigung der drei untersten Laubblätter notwendige Dosis liegt somit beim Inulin etwa 80—100 mal höher als bei den zwei hier zum Vergleich

herangezogenen echten Welketoxinen. Dies spricht erneut zugunsten der im vorangehenden Abschnitt (Der Wirkungsmechanismus der pathogenen Agenzien) vertretenen Auffassung, wonach das Inulin bloß als mechanisches Abdichtungsmittel der submikroskopischen Kapillaren wirkt.

7. Die Spezifität des Wirtsspektrums

Im ersten Abschnitt wurde gezeigt, daß beim pathologischen Welken eine hochgradige Spezifität des Gewebespektrums besteht; denn sowohl beim toxigenen als beim physikalisch induzierten Welken treten die Krankheitssymptome nur an bestimmten, charakteristischen Gewebepartien (meist an den Blatträndern und in den peripheren Interkostalfeldern) auf. Im Gegensatz zu dieser gemeinsamen Spezifität hinsichtlich des Gewebespektrums bestehen zwischen dem toxigenen und dem physikalisch induzierten Welken grundsätzliche Unterschiede hinsichtlich der Weite des Artenspektrums.

Beim toxigenen Welken ist der Wirkungsbereich des Welkegiftes stets spezifisch umgrenzt. Zwar können die verschiedenartigsten Pflanzen, die untereinander keinen inneren Zusammenhang zeigen, auf ein Welkegift ansprechen; so ruft Lycomarasmin außer bei Tomaten auch bei *Solanum tuberosum*, *Pelargonium zonale* und *Vitis vinifera* (bzw. bei deren Bastarden) den charakteristischen Welkeeffekt hervor, dagegen nicht bei *Brassica Napus* (hier sind nur Keimpflanzen empfindlich, und zwar individuell sehr verschieden), *Gossypium herbaceum*, *Impatiens Holstii*, *Lupinus polyphyllus*, *Nicotiana tabacum*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Ricinus communis* und *Sparmannia africana*. Es sind also nur ganz bestimmte Pflanzenarten für das Gift der Tomatenwelke sensibel.

Warum die meisten Pflanzenarten Lycomarasmin-tolerant sind, wissen wir noch nicht. Es mag sein, daß sie das Lycomarasmin enzymatisch spalten und dadurch unschädlich machen, ähnlich wie dies gewisse Penicillin-feste Bakterien mittels der Penicillase tun; oder es kann auch sein, daß sie mittels Streptogenin-artiger Stoffe eine Blockierung und dadurch eine Entgiftung des Lycomarasmcis bewirken. Wesentlich ist im vorliegenden Falle bloß die Tatsache, daß es bei den echten Welketoxinen stets ein scharf umschriebenes Wirkungsspektrum gibt.

Dabei kann es sogar geschehen, daß die Zufallswirte für das Gift der Tomatenwelke noch sensibler sind als die Tomaten selbst. So sprechen, wie Gäumann, Naef und Miescher demnächst berichten werden, bei den von ihnen untersuchten Tomatensorten sowohl die für die Welkekrankheit hochanfälligen wie die widerstandsfähigen Sorten auf das Lycomarasmin, also auf das Welkegift, ungefähr gleichermaßen an. Es besteht also innerhalb der botanischen Arten *Solanum Lycopersicum* und *Solanum pimpinellifolium* keine sorteuspezifische Abstufung der Giftempfindlichkeit, zum mindesten keine Abstufung, die mit der Krankheitsanfälligkeit einhergeht.

Wohl aber besteht eine sehr feine Differenzierung der Lycomarasminempfindlichkeit bei den zwei eben genannten willkürlichen Zu-

fallswirten *Pelargonium zonale* und *Vitis vinifera* bzw. *Vitis riparia*, die für die Krankheit, d. h. für den Erreger, in keiner Weise anfällig sind. Die betreffenden Versuche wurden unter den gleichen äußeren Bedingungen durchgeführt wie für unsern Abschnitt 3 („Die minimale Giftkonzentration“): bei der Lufttemperatur von rund 23°, der relativen Feuchtigkeit von rund 55% und der Belichtung durch zehn Fluoreszenzlampen wurden abgeschnittene Sprosse in die Lycomarasminlösung gestellt und (im Gegensatz zu den Versuchen für Abschnitt 3) die ganze Zeit über in ihr belassen, so daß der Giftnachschub unbehindert erfolgen konnte.

Tabelle 4 gibt über die Lycomarasminempfindlichkeit einiger *Pelargonium*-Sorten Auskunft, die uns durch die Vermittlung von Herrn Garteninspektor Roland von Wyss vom Gartenbauamt der Stadt Zürich zur Verfügung gestellt wurden: die Sorte Meteor ist für Lycomarasmin so empfindlich wie die Tomatenpflanzen, d. h. wie die legalen Wirte des *Fusarium lycopersici*; die Sorte Lachskönig ist dagegen für Lycomarasmin vollkommen unempfindlich.

Tabelle 4
Die Empfindlichkeit verschiedener Sorten von *Pelargonium zonale* für Lycomarasmin, das Gift der infektiösen Tomatenwelke
Ableseung nach 48 Stunden. ++ sehr starke Symptome. + deutliche Symptome. ± schwache Symptome. 0 keine Symptome

<i>Pelargonium</i> -Sorte	10 ⁻² molar	10 ⁻³ molar	10 ⁻⁴ molar
Meteor	++	+	+
Orange Sonne	++	+	+
Glarona	+	+	+
Zürich	+	0	±
Moll	+	±	0
Martel	+	0	0
Cattleya	±	0	0
Crazy	±	0	0
Lachskönig	0	0	0

Auch bei *Vitis vinifera* und bei ihren Kreuzungen mit *Vitis riparia* sprechen nur bestimmte Sorten auf Lycomarasmin an, andere dagegen nicht. Unter den sensiblen Sorten ist ein Direktträger, wie Tabelle 5 zeigt, sogar noch lycomarasminempfindlicher als die Tomatenpflanzen selbst; denn diese zeigen bei der Giftkonzentration von 10⁻⁵ molar keine manifesten Welkesymptome mehr.

Krankheitsanfälligkeit und Giftempfindlichkeit liegen somit beim toxigenen Welken auf vollkommen getrennten Ebenen. Die verschiedenen Tomatensorten sind verschieden krankheitsanfällig, aber gleich giftempfindlich; auch die Zufalls-wirte *Pelargonium zonale* und *Vitis vinifera* sprechen zwar sehr fein auf das Gift an, aber sie sind nicht krankheitsanfällig, d. h. nicht anfällig für den Erreger. Beim toxigenen Welken beruhen also die Krankheitsanfälligkeit und die Giftempfindlichkeit auf getrennten Mechanismen.

Tabelle 5
Die Empfindlichkeit einer Direktträgersorte aus der Gattung *Vitis* für Lycomarasin
(*Vitis vinifera* Sorte Gamay × *Vitis riparia*)

Ablesung nach	10^{-2} molar	10^{-3} molar	10^{-4} molar	10^{-5} molar	10^{-6} molar	Kontrolle (Wasser)
12 Stunden	Blattrand schrumpft	Blattspitze schrumpft	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung
24 Stunden	Scharf umgrenzte verdornte Zone etwa 1 cm breit längs des ganzen Blattrandes	Scharf umgrenzte schlaffe, teilweise verdornte Zone längs des Blattrandes, etwa 0,5 cm breit	Blattspitze verdorrt, sonst Blatt intakt	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung
48 Stunden	Das Blatt ist scharf in zwei Zonen geteilt. $\frac{2}{3}$ der Blattfläche sind dürr, während der Rest (der zentrale Teil der Blattspreite) vollkommen unverändert, also frisch grün und turgeszent erscheint	Wie bei 10^{-2} , aber lädierte Fläche kleiner; sie macht nur etwa $\frac{1}{8}$ der Blattfläche aus	Längs des Blattrandes sind die Gewebe etwa 3 mm breitschlaff und zum Teil verdorrt	Blattspitze und angrenzende Randpartien verdorrt	keine Veränderung	keine Veränderung

Anders beim physikalisch induzierten Welken. Hier ist das Wirtsspektrum derart weit, daß es nahezu als unspezifisch wirkt. Unter den oben genannten Wirten zeigen *Brassica Napus*, *Gossypium herbaceum*, *Impatiens Holstii*, *Lupinus polyphyllus*, *Nicotiana tabacum*, *Pelargonium zonale*, *Pisum sativum* und *Vitis vinifera* deutliche irreversible (beim Zurückstellen in Wasser nicht mehr verschwindende) Welkesymptome. Bei *Ricinus communis*, *Solanum tuberosum* und *Sparmannia africana* ist dagegen das Ergebnis zweifelhaft.

Es scheint also, daß fast jede Pflanzenart, welche Glukosane aufnimmt, durch diese Stoffe zum Welken gebracht werden kann, darunter auch *Impatiens Holstii*, die sich gegen reines Lycomarasin merkwürdigerweise refraktär verhält. Diese geringe Spezifität beim physikalisch induzierten Welken kann nicht verwundern; denn wo es sich nur darum handelt, die Interzellarräume und die peripheren Gefäßbündelpartien mechanisch zu verstopfen, da kann dieser Effekt im Prinzip bei jeder Pflanze zuwege gebracht werden, die das pathogene Agens überhaupt aufnimmt und unverändert weiterleitet.

Wenn also beim toxischen Welken zwischen der Giftempfindlichkeit und der Krankheitsanfälligkeit unterschieden werden mußte, so verhält sich das physikalisch induzierte Welken in dieser Hinsicht

wahrscheinlich gerade umgekehrt: Hier werden die Pflanzen krank infolge ihrer Empfindlichkeit für das pathogene Agens.

Überschauen wir rückblickend die sieben Diskussionspunkte, die wir nunmehr zur Differenzierung des toxigenen und des physikalisch induzierten Welkens abgewandelt haben, so müssen wir die beiden Welketypen trotz gewisser Koinzidenzen als grundsätzlich verschieden betrachten. Die Tatsache, daß sie aber offenbar beide in der Natur vorkommen, läßt die Schwierigkeiten vorausahnen, die an einem gegebenen Objekt der Abklärung der Pathogenese des Welkeeffektes entgegenstehen.

In der schon genannten Arbeit von Gäumann, Naef und Miescher wird gezeigt werden, daß Eisen die Toxizität des Lycomarasmins auf etwa das Acht- bis Zehnfache zu steigern vermag. Wir fragen uns deshalb zum Schluß: Wie verhalten sich die beiden nunmehr besprochenen pathogenen Agenzien des toxigenen und des physikalisch induzierten Welkens zueinander, wenn sie gleichzeitig in der Pflanze vorkommen, ähnlich wie dies Diamond (1947) für das Ulmensterben angenommen hat? Bestehen sie einfach passiv nebeneinander, oder gibt es zwischen ihnen eine Summationswirkung, oder lösen sie gar einen Synergismus oder eine Komplexwirkung aus wie Eisen mit Lycomarasmin?

Selbstverständlich ist Inulin kein natives Glukosan des *Fusarium lycopersici*, und wir wissen deshalb nicht, ob sich in der Kombination Lycomarasmin + Inulin die beiden Partner kongenial verhalten; aber es lohnt sich doch, einmal für verloren, die beiden pathogenen Agenzien, über die wir nun solange diskutiert haben, miteinander zu mischen und dann ihren pathogenen Effekt auf Tomaten zu verfolgen. Wir betrachten drei Kriterien, a) den Verlauf des Wasserhaushaltes, b) das Wirtsspektrum und c) die Lage der dosis minima.

a) Der Verlauf des Wasserhaushaltes

Abb. 8 und 9 veranschaulichen den Verlauf der Wasserbilanz von Tomatensprossen in einer 10^{-3} molaren Lycomarasmin- plus 10^{-3} molaren Inulinlösung und in einer 10^{-3} molaren Lycomarasmin- plus 10^{-4} molaren Inulinlösung. Wesentlich ist in den zwei Abbildungen, daß die beiden Hauptmerkmale des reinen Lycomarasmins, die Schockwirkung und die nachherige vorübergehende Übersteigerung der Wasserabgabe, wegfallen; sondern die Kurven verlaufen in beiden Abbildungen so, wie wenn reines Inulin angewandt worden wäre.

Die Wasserbilanzkurven der Abb. 8 erinnern denn auch weitgehend an die Abb. 1, diejenigen der Abb. 9 an Abb. 3. Verschieden von Abb. 1 und 3 ist nur das sehr frühzeitige Auftreten der Krankheitssymptome (vgl. dazu Tabelle 1); darin kommt offenbar der Lycomarasminzusatz zum Ausdruck.

Die Erklärung dieser auffallenden Tatsache, daß die Wasserbilanzkurven in Abb. 8 und 9 durch die Inulinkomponente gesteuert werden, liegt wohl darin, daß das Inulin unmittelbar nach seiner Aufnahme die Wasserleitungsbahnen des Wirtes abdichtet; infolgedessen kann das gleichzeitig aufgenommene

Lycomarasmin nicht mehr genügend rasch und in genügend großer Menge in das Innere der Blattzellen gelangen, um den charakteristischen Schock auszulösen; und die nachherige Übersteigerung der Transpiration fällt ohnehin weg, weil ja nun die submikroskopischen Kapillaren der Zellwände verstopft sind, so daß das im Plasma freigelegte Wasser nicht mehr in den (auch seinerseits gedrosselten) Transpirationsstrom hinaustreten kann.

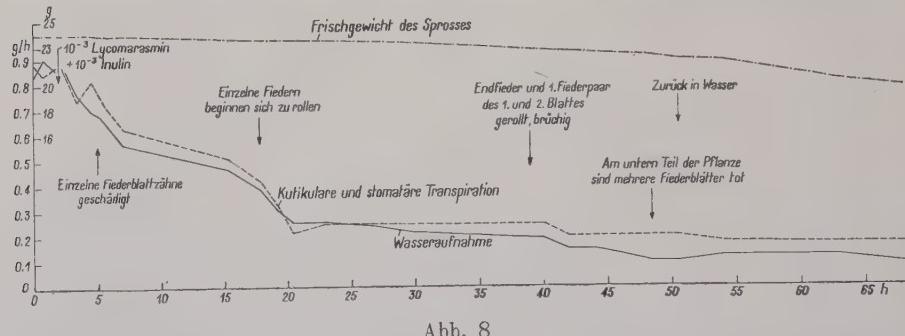


Abb. 8

Der Einfluß einer 10^{-3} molaren Lycomarasmin- plus 10^{-3} molaren Inulinlösung bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Licht. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn.

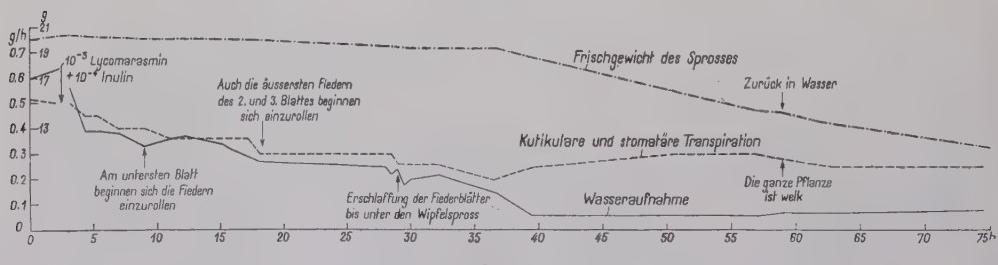


Abb. 9

Der Einfluß einer 10^{-3} molaren Lycomarasmin- plus 10^{-4} molaren Inulinlösung bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Licht. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

b) Das Wirtsspektrum

Dieses ist bei der gemeinsamen Verabreichung von 10^{-3} molarem Lycomarasmin und 10^{-3} molarem Inulin gleich weit wie für 10^{-3} molares Inulin allein. Dies kann an sich nicht überraschen, da ja das Inulin schon für sich allein sehr unspezifisch wirkt; aber es wäre doch denkbar gewesen, daß die wenigen Wirtsarten, die Inulin-resistant sind, so *Sparmannia africana*, durch die zusätzliche Applikation von Lycomarasmin hätten geschädigt werden können. Dies ist nicht der Fall: die beiden Stoffe scheinen gegenseitig keine Aktivatorwirkung auszuüben und auch keinen neuen Komplex mit neuen Eigenschaften zu bilden. Dadurch unterscheidet sich die Kombination Lycomarasmin plus Inulin vom Lycomarasmin-Eisen-Komplex, der, wie Gäumann, Naef und Miescher in ihrer schon genannten Arbeit zeigen werden, ein ganz anderes, nämlich viel weiteres Wirtsspektrum besitzt als Lycomarasmin für

sich allein oder als Eisen für sich allein: bei der Lycomarasmin-Eisen-Kombination wird eben ein neuer Stoff gebildet, dessen Eigenschaften nicht bloß eine Summation der beiden Komponenten darstellen.

c) Die Lage der dosis minima

Eine kleine Auswahl aus den Ergebnissen ist in Tabelle 6 zusammengestellt.

Tabelle 6
Die Lage der dosis minima bei dauerndem Nachschub einer
Lycomarasmin-Inulin-Lösung

Aufgenommene Substanzmenge in mg je kg Lebendgewicht Lycomarasmin + Inulin	Durchschnittliche Aufnahmeezeit in Stunden	Symptome
		10^{-3} molar Lycomarasmin + 10^{-3} molar Inulin
18,8	343,8	0,5 Einzelne Fiederblättchen der untersten Blätter mit vertrocknender Spitze. Sonst Pflanzen intakt
23,1	423,1	1 gleich wie oben
47,3	850	3 Unterstes Blatt schwer, 2.—4. Blatt leicht geschädigt (nur an den Endfiedern)
152	2538	8 Sämtliche Blätter geschädigt, jedoch das 4. und 5. weniger stark als die unteren
218	3889	26 Sämtliche Blätter zu mindestens $\frac{2}{3}$ abgestorben
		10^{-3} molar Lycomarasmin + 10^{-4} molar Inulin
14,5	25,9	0,5 Die Spitze der Endfieder des ersten Blattes ist verdorrt; an der Endfieder und am ersten Fiederpaar treten Vergilbungen auf
17,3	30,8	1 gleich wie oben
43,0	77,5	2 Unterstes Blatt gerollt und stellenweise vergilbt; sonst Pflanze intakt
68,1	121,9	3 Die Schädigungen haben auf das zweitunterste Blatt übergegriffen
102	182	6,5 Die Ränder des zweiten Blattes beginnen zu verdorren
289	516	39 Die drei untersten Blätter sind schwer, das 4. und 5. Blatt sind leicht geschädigt

In der Kombination 10^{-3} molar Lycomarasmin plus 10^{-3} molar Inulin liegt der Schwellenwert, um die drei untersten Laubblätter irreversibel zu schädigen, bei etwa 50—60 mg Lycomarasmin plus 900—1000 mg Inulin je Kilogramm Lebendgewicht; in der Kombination 10^{-3} molar Lycomarasmin plus 10^{-4} molar Inulin liegt er bei etwa 200 mg Lycomarasmin + 350 mg Inulin.

Für reines Lycomarasmin liegen die entsprechenden Werte für eine 10^{-3} molare Lösung bei 150—200 mg, für den Lycomarasmin-Eisen-Komplex bei 10—15 mg und für reines Inulin (Tabelle 3) bei 1600—1700 mg je Kilogramm Lebendgewicht. Im Falle unserer Tabelle 6 wurden somit bei der 10^{-3} molaren

Lycomarasmin- plus 10^{-3} molaren Inulinlösung für die irreversible Schädigung der drei untersten Laubblätter etwa $\frac{1}{3}$ der für reines Lycomarasmin minimalen Menge und rund $\frac{2}{3}$ der für Inulin minimalen Menge benötigt; bei der 10^{-3} molaren Lycomarasmin- und 10^{-4} molaren Inulinlösung ist der Schwellenwert ungefähr gleich wie wenn reines Lycomarasmin (als der giftigeren Komponente) appliziert worden wäre, nämlich bei rund 200 mg je Kilogramm Lebendgewicht, und die gleichzeitig aufgenommenen 400 mg Inulin spielen keine meßbare zusätzliche Rolle. Die Aktivatorwirkung, die beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex besteht, scheint also in der Kombination Lycomarasmin + Inulin nicht nur hinsichtlich des Wirtsspektrums, sondern auch hinsichtlich der dosis minima zu fehlen; sondern es erfolgt nur eine einfache Summation der Wirkungen der einzelnen Komponenten.

Die hier in starker Kürzung mitgeteilten Untersuchungen über die Giftwirkung von Lycomarasmin plus Inulin bei gleichzeitiger Applikation bestätigen somit indirekt die in dem Abschnitt über den Mechanismus der Giftwirkung entwickelte Auffassung, wonach die beiden Stoffe an unterschiedlicher Stelle in das Wirtsgeschehen eingreifen, nämlich das Lycomarasmin im Plasma und das Inulin in den Zellwänden. Es ist deshalb schon von vornherein nicht wahrscheinlich, daß sie bei gemeinsamer Applikation zur Bildung eines neuen, selbständigen Komplexes führen wie die Kombination Lycomarasmin plus Eisen, sondern es ist, entsprechend den verschiedenartigen Angriffspunkten, von vornherein wahrscheinlich, daß sie bloß zu einer verwickelten Kombination zweier örtlich getrennter Effekte Anlaß geben.

Doch bestehen bei derartigen kombinativen Effekten zweifelsohne weit feinere Differenzierungen, als sie in den soeben kurSORisch geschilderten Lycomarasmin-Inulin-Versuchen zutage treten. Wir möchten ihnen aber im vorliegenden Zusammenhange nicht weiter nachgehen, solange nicht sichersteht, daß das Inulin wirklich in jeder Beziehung als Modellbeispiel für die nativen Welkeglukosane gelten darf.

Zusammenfassung

1. Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen die Erfahrungen von Hodgson, Riker und Peterson, wonach Glukosane in den Wasserleitungsbahnen von Tomatensprossen hochgezogen werden und in den Blättern irreversible Welkeerscheinungen hervorrufen; dabei wird der gesamte Wasseraumsatz, sowohl die Wasseraufnahme als die Wasserabgabe, zu gleicher Zeit in ungefähr gleichem Ausmaß gedrosselt, so daß das Gesamtfrischgewicht der Versuchspflanzen ungefähr konstant bleibt.

2. Hinsichtlich der Lokalisierung und Ausprägung des Welkeeffektes, hinsichtlich der Irreversibilität und hinsichtlich der minimalen Giftkonzentration stimmt das Glukosanwelken weitgehend mit dem toxigenen Welken überein. Verschieden sind dagegen

- a) der pathologische Verlauf des Wasserhaushaltes (beim Glukosanwelken fehlen die Schockwirkung und die nachfolgende vorübergehende Übersteigerung der Transpiration);

b) der Wirkungsmechanismus des pathogenen Agens. Die Angriffspunkte der beiden Agenzien sind völlig verschieden: die Welketoxine wirken auf das Plasma ein und stören die osmotischen Voraussetzungen des Turgors; die Glukosane wirken dagegen offenbar zur Hauptsache auf die Zellwände ein, verstopfen die submikroskopischen Kapillaren und unterbrechen dadurch die Wasserzirkulation; das toxigene Welken ist deshalb ein chemisch, das Glukosanwelken ein physikalisch induziertes Welken;

c) die dosis minima, um die drei untersten Laubblätter irreversibel zu schädigen. Sie liegt bei Inulin etwa 80—100 mal höher als beim Lycomarasmin (reines Lycomarasmin rund 150—200 mg, Lycomarasmin plus Eisen rund 10—15 mg, Inulin rund 1600—1700 mg je Kilogramm Lebendgewicht);

d) das Wirtsspektrum. Es ist beim Lycomarasmin eng und spezifisch umgrenzt, beim physikalisch induzierten Welken dagegen weit und wenig spezifisch; fast jede Pflanze, welche die Glukosane überhaupt aufnimmt, kann durch sie zum Welken gebracht werden.

3. Bei gleichzeitiger Applikation von Lycomarasmin und Inulin tritt kein neuer Effekt ein, sondern es ergibt sich bloß eine Summation der beiden Einzelwirkungen.

Die vorliegende Untersuchung entstammt einem Zyklus, der durch die Kommission zur Förderung wissenschaftlicher Forschung des Eidg. Volkswirtschaftsdepartementes unterstützt wurde; wir möchten ihr auch hier unsern Dank wiederholen.

Zitierte Literatur

- Cavallito, C. J. and Bailey, J. H. 1944. Preliminary note on the inactivation of antibiotics. *Science* **100**, 390.
- Cavallito, C. J. and Haskell, T. H. 1945. The mechanism of action of antibiotics. The reaction of unsaturated lactones with cysteine and related compounds. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **67**, 1991—1994.
- Clauson-Kaas, N., Plattner, Pl. A. und Gäumann, E. 1944. Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* **54**, 523—528.
- Dimond, A. E. 1947. Symptoms of Dutch elm disease produced by toxins of *Graphium ulmi* in culture. *Phytopath.* **37**, 7.
- Gäumann, E. 1946. Pflanzliche Infektionslehre. Verlag Birkhäuser, Basel, 611 S.
- Gäumann, E. 1948. Über den Mechanismus des infektiösen Welkens. *Biologisches Zentralblatt* **67**, 22—26.
- Gäumann, E. 1949. Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. Report. Proceed. 4. internat. Congr. Microbiol. Copenhagen, 1947, 407—408.
- Gäumann, E. und von Arx, A. 1947. Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte II. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* **57**, 174—183.
- Gäumann, E. und Jaag, O. 1946. Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. *Experientia* **2**, 215—220.
- Gäumann, E. und Jaag, O. 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* **57**, 3—34, 132—148, 227—241.
- Gäumann, E., Jaag, O. und Braun, R. 1947. Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte I. *Experientia* **3**, 70—71.
- Gäumann, E., Roth, St., Ettlinger, L., Plattner, Pl. A. und Nager, U. 1947. Enniatin, ein neues, gegen Mykobakterien wirksames Antibioticum. *Experientia* **3**, S. 202.
- Geiger, W. B. 1947. Antibacterial unsaturated ketones and their mode of action. *Arch. Biochem.* **16**, 423—435.

- Geiger, W. B. and Conn, J. E. 1945. The mechanism of the antibiotic action of clavacin and penicillic acid. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **67**, 112–116.
- Gottlieb, D. 1943. The presence of a toxin in tomato wilt. *Phytopath.* **33**, 126–135.
- Gottlieb, D. 1944. The mechanism of wilting caused by *Fusarium bulbigenum* var. *lycopersici*. *I. c.* **34**, 41–59.
- Hodgson, R., Peterson, W. H. and Riker, A. J. 1949. The toxicity of polysaccharides and other large molecules to tomato cuttings. *I. c.* **39**, 47–62.
- Hodgson, R. A., Riker, A. J. and Peterson, W. H. 1945. Polysaccharide production by virulent and attenuated crown-gall bacteria. *Journ. Biol. Chem.* **158**, 89–100.
- Hodgson, R. A., Riker, A. J. and Peterson, W. H. 1947. A wilt-inducing toxic substance from crown-gall bacteria. *Phytopath.* **37**, 301–318.
- McIntire, F. C., Peterson, W. H. and Riker, A. J. 1942. A polysaccharide produced by the crown-gall organism. *Journ. Biol. Chem.* **143**, 491–496.
- Plattner, Pl. A. und Clauson-Kaas, N. 1944. Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. *Helv. Chim. Acta* **28**, 188–195.
- Plattner, Pl. A. und Clauson-Kaas, N. 1945. Über Lycomarasmin, den Welkestoff aus *Fusarium lycopersici* Sacc. *Experientia* **1**, 195–196.
- Plattner, Pl. A., Clauson-Kaas, N., Boller, A. und Nager, U. 1948. Der hydrolytische Abbau des Lycomarasmins. *Helv. Chim. Acta* **31**, 860–869.
- Plattner, Pl. A. und Nager, U. 1947. Über die Chemie des Enniatins. *Experientia* **3**, 325–326.
- Plattner, Pl. A. und Nager, U. 1948. Über die Konstitution von Enniatin B. *Helv. Chim. Acta* **31**, 665–671.
- Plattner, Pl. A. und Nager, U. 1948. Über die Konstitution von Enniatin A. *I. c.* **31**, 2192–2203.
- Plattner, Pl. A. und Nager, U. 1948. Analyse und Charakterisierung der Enniatine. Über das Verhalten von N-Methyl-aminosäuren im Papierchromatogramm. *I. c.* **31**, 2203–2209.
- Plattner, Pl. A., Nager, U. und Boller, A. 1948. Welkestoffe und Antibiotica VII. Über die Isolierung neuartiger Antibiotica aus Fusarien. *I. c.* **31**, 594–602.
- Sprince, H. and Woolley, D. W. 1944. Relationship of a new growth factor required by certain hemolytic streptococci. To growth phenomena in other bacteria. *Journ. exper. Medicine* **80**, 213–217.
- Sprince, H., and Woolley, D. W. 1945. The occurrence of the growth factor strepogenin in purified proteins. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **67**, 1734–1736.
- Thomas, C. A. 1949. A wilt-inducing polysaccharide from *Fusarium solani* f. *eumartii*. *Phytopath.* **39**, S. 24.
- Woolley, D. W. 1941. A new growth factor required by certain hemolytic streptococci. *Journ. exper. Medicine* **73**, 487–492.
- Woolley, D. W. 1946. Some correlations of growth-promoting powers of proteins with their strepogenin content. *Journ. Biol. Chem.* **162**, 383–388.
- Woolley, D. W. 1946. Strepogenin activity of seryl glycylglutamic acid. *I. c.* **166**, 783–784.
- Woolley, D. W. 1948. Strepogenin activity of derivatives of glutamic acid. *I. c.* **172**, 71–81.
- Woolley, D. W. 1949. Some applications of antagonism between structural similar compounds to studies of infectious diseases. Report of Proceed., 4. internat. Congress. Microbiol., Copenhagen, 1947, S. 108.
- Woolley, D. W. and Sprince, H. 1945. The occurrence of a new nutritive essential, strepogenin, in certain crystalline proteins. *Federation Proceedings* **4**, Nr. 1, S. 1.

BAND XVI, HEFT 3

MÄRZ 1950

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading,
Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle,
Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen,
Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. G. Gassner
Braunschweig

und

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich



Mit 42 Abbildungen

1950

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

INHALT

Abhandlungen

Gäumann, Ernst, Naef-Roth, Stephi und Miescher, Guido, Untersuchungen über das Lycomarasmin. (Mit 4 Abb.)	257
Gäumann, Ernst, Naef-Roth, Stephi und Ettlinger, L., Zur Gewinnung von Enniatinen aus dem Myzel verschiedener Fusarien	289
Blumer, S. und Geering, J., Das Kirschbaumsterben im Baselland. (Mit 17 Abb.)	300
Pavlik, Miloš, Studies in the pH regulation by the fungous mycelium of <i>Fusarium scirpi</i> Lamb. et Fautr. (Mit 6 Abb.)	336
Stapp, C., Die Spelzenbräune des Weizens	359
Miescher, Guido, Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf <i>Solanum lycopersicum</i> L. (Mit 15 Abb.)	369

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenhandschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen“ sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen“ erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1, und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen“ entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstr. 44–47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.

Zusendung der „Besprechungen“ unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen“ beträgt 32,— M. je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei. Honorar für die „Besprechungen“ 48,— M. je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Jährlich erscheinen 6 Hefte, deren 4 zu einem Band vereinigt werden.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 2,— M. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

*Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule
in Zürich*

Untersuchungen über das Lycomarasmin

Von

Ernst Gäumann, Stephi Naef-Roth und Guido Miescher

Inhalt: Einleitung. 1. Die Testmethode für Welketoxine. 2. Besteht beim *Fusarium lycopersici* ein Zusammenhang zwischen der Pathogenität in vivo und der Toxigenität in vitro? 3. Die dosis minima. 4. Der Lycomarasmin-Eisen-Komplex. 5. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Krankheitsanfälligkeit und der Welkegiftempfindlichkeit der verschiedenen Tomatensorten? 6. Der Einfluß der Ernährung auf die Welkegiftempfindlichkeit der Tomatenpflanzen. Zusammenfassung. Zitierte Literatur.

Einleitung

Lycomarasmin ist ein Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc., dem Erreger der infektiösen Tomatenwelke. Es ist chemisch ein Polypeptid von der Summenformel $C_9H_{15}O_7N_3$ und dem Molekulargewicht 277,3 (Clauson-Kaas, Plattner und Gäumann 1944; Plattner und Clauson-Kaas 1944, 1945; Plattner, Clauson-Kaas, Boller und Nager 1948). Es ist bis jetzt noch von keinem anderen Fusarium als vom *Fusarium lycopersici* bekannt und scheint also für dieses spezifisch zu sein.

Der Mechanismus seiner welkeauslösenden Wirkung wurde von Gäumann und Jaag (1946, 1947) und von Gäumann (1948, 1949) verfolgt.

In der vorliegenden Mitteilung möchten wir einige allgemein-biologische Fragen besprechen, nämlich

1. Wie werden Welkegifte biologisch getestet?
2. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Pathogenität und der Toxigenität des *Fusarium lycopersici*?
3. Welche ist die dosis minima (die „wirksame Dosis“) des Lycomarasmins?
4. Wie wirkt Lycomarasmin in Gegenwart von Eisen?
5. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Krankheitsanfälligkeit und der Welkegiftempfindlichkeit der verschiedenen Tomatensorten? Und
6. Besteht ein Einfluß der Ernährung auf die Welkegiftempfindlichkeit der Tomatenpflanzen?

Die vorliegende Arbeit entstammt einem Zyklus, der aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes unterstützt wurde; wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unsern Dank wiederholen.

1. Die Testmethode für Welketoxine

Voraussetzung für jede Isolierung eines aktiven Naturstoffes ist ein hinlänglich eindeutiger und ein hinlänglich genauer Test. Im Falle der Welketoxine stößt jedoch die Austestung z. B. von Kulturfiltraten aus drei Gründen auf erhebliche Schwierigkeiten. Einmal deshalb, weil wir im Phasenablauf nicht den entscheidenden Vorgang, sondern späte Folgesymptome beurteilen: wir beobachten ja nicht mikroskopisch die Schädigung oder den Tod der in Mitleidenschaft gezogenen Zellen und Gewebe, sondern makroskopisch, grob visuell, späte Folgeerscheinungen dieser Schädigungen, eben das Welken usw. Sodann sind diese Folgeerscheinungen, weil sie auf einer Mehrzahl von Effekten beruhen, komplex und deshalb schwer zu klassieren; so löst das Lycomarasmin zu gleicher Zeit einen Welkeeffekt (Erschlaffung) und einen Aussteifungseffekt (Starrwerden der Gewebe) aus; die Bewertung der Symptome läßt sich deshalb nur von einem Beobachter mit Sicherheit einheitlich durchführen. Und endlich streuen die Versuchspflanzen unerwünscht stark, einerseits weil die einzelnen Sprosse oder Blätter in der Zeiteinheit ungleich viel Toxinlösung aufnehmen, und andererseits weil sie auf dieselbe Toxinmenge individuell verschieden stark und verschieden deutlich ansprechen.

Wegen dieser methodischen Schwierigkeiten der Austestung von Kulturlösungen mit Hilfe von Blütenpflanzen wird man sich bei Welketoxinen stets vergewissern, ob ihr Wirksamkeitsspektrum nicht zufällig auch Mikroorganismen (Bakterien oder Pilze) umfaßt; in diesem Falle könnte die Austestung der Toxinlösungen an Hand der weit genaueren Arbeitsmethoden, die für die Antibiotica entwickelt worden sind, erfolgen. Im Falle des Lycomarasmins haben wir rund 60 Bakterien und rund 100 Pilze durchprobiert, leider ohne Erfolg. Es geht von ihm kein bakterio- oder fungistatischer Effekt aus. Wir mußten deshalb zu den Blütenpflanzen als Testobjekten zurückkehren.

Auch bei den Blütenpflanzen wird man sich fragen, ob es nicht Zufalls-wirte gibt, die auf das betreffende Toxin eindeutiger, regelmäßiger oder stärker ansprechen als der Hauptwirt; so ist eine bestimmte Sorte von *Pelargonium zonale* (die Sorte Meteor) und ein Bastard zwischen *Vitis vinifera* \times *Vitis riparia* (also eine Direktträgerrebe) für Lycomarasmin sensibler als der Hauptwirt, die Tomatenpflanze (Gäumann und Jaag 1949). Auch Raps kann unter Umständen sehr empfindlich sein; aber in allen diesen Beispielen ist die individuelle Streuung derart groß, daß sie die quantitative Auswertung der Versuche verunmöglicht und dadurch die betreffenden Objekte, trotz ihrer Empfindlichkeit, für Testversuche als ungeeignet erscheinen läßt. Das günstigste Testobjekt sind deshalb im Falle des Lycomarasmins, trotz aller Mängel, Tomatenpflanzen der Sorte Tuckswood.

Wir verwenden als Testmaterial junge, frisch entfaltete, 5—6 cm lange Blätter, die von jungen, 20—25 cm hohen Pflanzen stammen, die unter möglichst konstanten Bedingungen in Erde im Glashaus gezogen worden waren. Möglichst gleichartiges Blattmaterial ist für den Test wichtig, weil

ältere Blätter derselben Pflanzen und junge Blätter von älteren Pflanzen eine geringere Empfindlichkeit gegen das Toxin aufweisen.

Die Testung wird in einem künstlich beleuchteten Raum (4 Glühbirnen zu je 150 Watt) bei der Lufttemperatur von 23—25°C und der relativen Feuchtigkeit von 60—70% in der folgenden Weise durchgeführt. Von der auf ihre Welkeintensität zu prüfenden Lösung werden mit Leitungswasser vier Verdünnungsstufen angelegt, um möglichst den gesamten Wirkungsbereich von starker bis nahezu fehlender Wirkung auf einmal zu erfassen: unverdünnt, 1:1, 1:3 und 1:7 (also einen Teil Toxinlösung auf 7 Teile Leitungswasser).

Von jeder Verdünnungsstufe werden 50 ccm in eine Petrischale gegeben; auf die Schale wird ein Deckel aus Aluminiumblech gelegt, der zehn Löcher enthält. Mit einem scharfen Messer werden zweckentsprechende Tomatenblätter abgeschnitten und sogleich in diese zehn Löcher gestellt. Nach 48 Stunden werden die Welkesymptome an den Blättern abgelesen und ausgewertet.

Welche Symptome soll man für die Bewertungsskala verwenden? Wellman (1939) basiert auf der Verfärbung der Gefäßbündel. Hodgson, Riker und Peterson (1947) beurteilen den Welkeeffekt ihrer Glukosane auf Grund einer sehr schönen Abstufung von Blattsymptomen. Im Falle der Austestung von Kulturfiltraten des *Fusarium lycopersici* treten jedoch zwei verschiedene Gruppen von Schädigungen auf, **a** ein Schlaffwerden des Blattstiels und **b** eine Nekrose der Blattspreite (Abb. 1). Beide Symptomgruppen lassen sich in fünf Stufen quantitativ ablesen.

Da sich die Symptomgruppe **a** (das Schlaffwerden der Blattstiele und des Stengels) nur beim

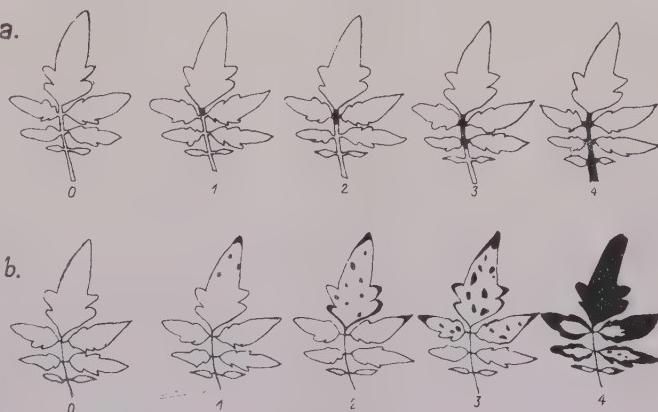


Abb. 1

Die Schädigungen an Tomatenblättern, verursacht durch Kulturfiltre des *Fusarium lycopersici* Sacc.

Symptomgruppe a.:

- 0 Keine Wirkung, Blattstiel turgeszent.
- 1 Blattstiel im obersten Viertel schlaff.
- 2 Blattstiel zur Hälfte schlaff.
- 3 Blattstiel zu drei Vierteln schlaff.
- 4 Ganzer Blattstiel schlaff.

Symptomgruppe b.:

- 0 Keine Wirkung.
- 1 Geringe Fleckenbildung im ersten Fiederblatt.
- 2 Starke Fleckenbildung im ersten Fiederblatt.
- 3 Starke Fleckenbildung auf den drei obersten Fiederblättern.
- 4 Starke Fleckenbildung auf sämtlichen Fiederblättern.

Austesten von Kulturfiltraten, nicht bei reinen Lycomarasminlösungen, zeigt und da sie überdies viel stärker streut als Symptomgruppe **b**, so verwenden wir in der Regel zur Austestung von Lösungen nur diese, also nur die Fleckennekrose. Zu diesem Zwecke werden für jede der vier Verdünnungsstufen die Ergebnisse der je zehn Blätter gemittelt, und die Mittelwerte werden auf semilogarithmisches Papier aufgetragen. Durch die vier Punkte wird eine Gerade gelegt; an Hand dieser Geraden wird annähernd diejenige Konzentration der Testlösung bestimmt, die einer Welkeintensität

der Stufe 2 entspricht. Diese Menge nennen wir eine Welkeeinheit. Ein Kulturfiltrat, das in der Verdünnung 1:500 im Mittel von zehn Blättern eine Welkeintensität der Stufe 2 auslöst, besitzt somit 500 Welkeeinheiten.

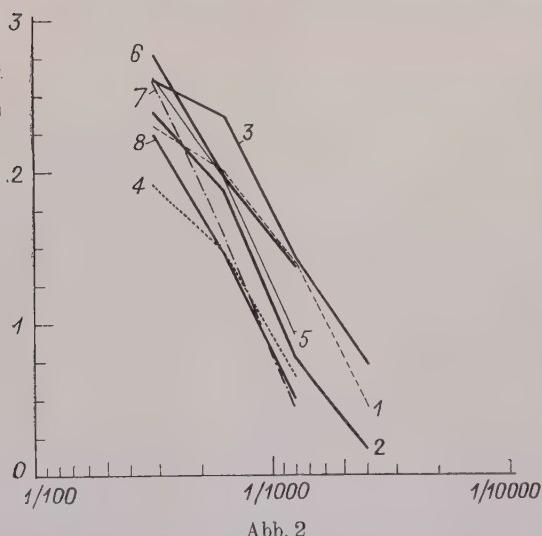


Abb. 2

Der Schwankungsbereich des Tomaten-
testes bei einem Kulturfiltrat des *Fusarium lycopersici* Sacc. Abszisse: Konzentration der Test-
lösung. Ordinaten: Welkeintensitäten. Die
Kurven 1, 2 und 3 basieren auf je 10, die Kurven
4–7 auf je 20 und die Kurve 8 auf 40 Parallelblättern

(Abb. 2) zeigen bei der quantitativen Auswertung eine Streuung von etwa $\pm 20\%$ (berechnet aus 8 Versuchen mit je 20 Blättern).

Dieses Ergebnis wäre sehr erfreulich. Wird jedoch unser gesamtes Zahlenmaterial statistisch bearbeitet, wofür wir Herrn Kollegen A. Linder und seinem Assistenten Herrn A. Kaelin zu großem Danke verpflichtet sind, so ergibt sich leider, daß die Streuung der Welkesymptome bei den einzelnen Blatt-individuen doch recht groß ist; deshalb stellt die hier aus den Welkeeinheiten von 8 Standardtests berechnete Streuung von $\pm 20\%$ ein zufälligerweise sehr günstiges Ergebnis dar. Immerhin sind die Streuungen in den mittleren Bereichen der Welkeintensität am kleinsten; deshalb definieren wir die Welkeeinheit durch die Wirkungsstufe 2.

Der Versuch, die beiden Symptomgruppen **a** und **b** so zu kombinieren, daß eine lineare Regression entsteht, mußte leider scheitern, weil die beiden Symptomgruppen nicht parallel verlaufen. Die Symptomgruppe **a** verhält

Um die Brauchbarkeit unserer Testmethode (vor allem für die bei der chemischen Aufarbeitung anfallenden Fraktionen) zu prüfen, wurde im Laufe mehrerer Wochen eine Standardlösung durchgetestet. Eine drei Wochen bei 27°C inkubierte Pilzkultur wurde steril geerntet, und das Filtrat wurde bei 3°C aufbewahrt. Nun wurden nacheinander Tests mit je 10, 20 und 40 Blättern je Verdünnungsstufe angesetzt. Die daraus resultierenden Kurven

sich nicht linear, wohl aber die Symptomgruppe b; deshalb kann die Welke-einheit nur auf der Symptomgruppe b aufgebaut werden.

Wird zur Berechnung der Testgenauigkeit die Streuung der Einzelwerte um die Regressionsgerade ermittelt, so zeigt es sich, daß auch bei mittleren Konzentrationen eine Blattzahl von 10 bzw. 20 Einzelindividuen je Teststufe nicht genügt, um die Konzentration x mit Sicherheit von der Konzentration 2x bzw. x/2 zu trennen: erst bei der Verwendung von 40 Einzelblättern kann diese Genauigkeit erreicht werden. Die Richtungen der für die einzelnen Standardbestimmungen berechneten Regressionsgeraden weichen zwar nur unerheblich voneinander ab; ihrer Lage nach erweisen sie sich jedoch als derart verschieden, daß erst bei einer sehr hohen Blattzahl eine sichere Testgenauigkeit z. B. von $\pm 50\%$ erreicht werden kann. Dies ist für den Chemiker, der Stufe für Stufe des Kulturfiltrates weiter aufarbeiten muß, sehr verdrießlich; aber wir sehen im Falle des Lycomarasmins vorläufig keine Möglichkeit, um zuverlässig zu einer größeren Testgenauigkeit zu kommen.

Zur Produktion von Kulturfiltrat verwenden wir die Richardsche Nährlösung in der Modifikation von Luz (1934; 10 g NH_4NO_3 , 5 g KH_2PO_4 , 2,5 g MgSO_4 , 0,02 g FeCl_3 , 50 g Glukose, 1000 ccm aqua dest.), die in Zweiliter-Glaxokolben mit je 500 ccm Nährlösung dreimal in Intervallen von je 24 Stunden im strömenden Dampf sterilisiert wird. Zur Beimpfung der Kulturgefäße dient eine Sporensuspension aus einer acht Tage alten Reiskultur des Pilzes (Stammkultur abwechselnd auf Malzagar

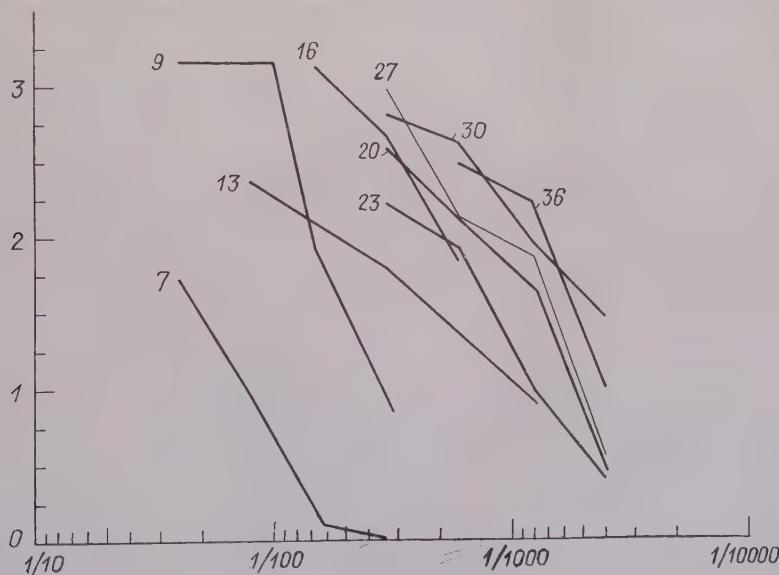


Abb. 3

Zeitdiagramm der Welkeintensität im Kulturfiltrat des *Fusarium lycopersici* Sacc. Abszisse: Konzentration der Testlösung. Ordinaten: Welkeintensität. Kurvenbezeichnung: Kulturzeit in Tagen. Zehn Parallelblätter je Verdünnungsstufe

und auf Weizenstroh). Die beimpften Kolben werden bei 24° C in einem dunklen Raum während fünf Wochen inkubiert. Dann wird die Kulturlösung vom Myzel getrennt (Filtration durch Seidengaze), im Tomatentest auf ihre Welkeintensität geprüft und hernach chemisch aufgearbeitet.

Die Abhängigkeit der Welkeintensität von der Kulturdauer ist in Abb. 3 dargestellt. Die Kurven zeigen ein deutliches Ansteigen der Toxizität der Stoffwechselloösung mit dem Alter der Kultur: nach 9 Tagen enthält die Lösung 170 Welkeeinheiten, nach 30 Tagen 1200 und nach 36 Tagen 1000 Welkeeinheiten. So werden unsere Kulturen in der Regel 5 Wochen nach der Beimpfung geerntet.

Die bis jetzt besprochenen Testgenauigkeiten gelten für Lycomarasminhaltige Kulturflüssigkeiten. Bei der Austestung von reinem Lycomarasmin mittels Tomatenblättern zeigt sich, wie schon erwähnt, nur der Symptomkomplex b; der Blattstiel versteift sich und erschlafft nur in seltenen Fällen im obersten Viertel. Die statistischen Berechnungen mit dem Zahlenmaterial der in Abb. 4 graphisch dargestellten Tests ergaben wiederum eine ziemliche Konstanz der Regressionsgeraden in bezug auf ihre Richtung, die jedoch von der für die Kulturfiltrate berechneten wesentlich abweicht. In bezug auf ihre Lage ist es aber auch beim reinen Stoff nicht zulässig, die vier Geraden (Abb. 4) durch eine einzige zu ersetzen. Die Streuungen um die mittleren Regressionen sind jedoch beim reinen Stoff wesentlich geringer als beim Kulturfiltrat, so daß in diesem Fall ein Test mit 20 Einzelblättern je Teststufe genügt, um die Konzentration x mit Sicherheit von der Konzentration $2x$ zu unterscheiden.

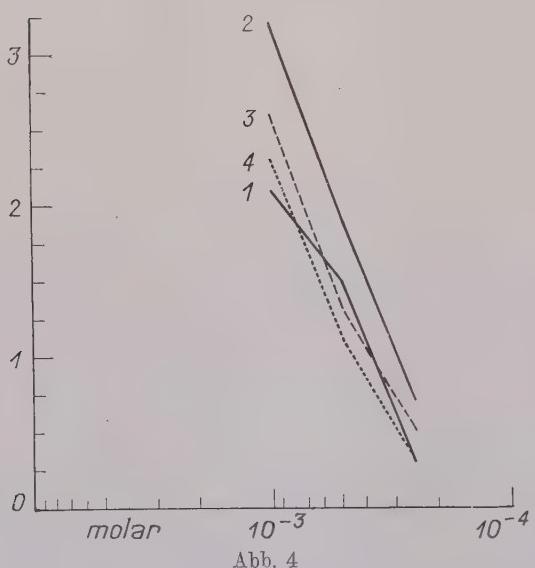


Abb. 4

Der Schwankungsbereich des Tomatentestes für reines Lycomarasmin. Abszisse: Konzentration der Testlösung. Ordinaten: Welkeintensitäten. Die Versuche für die Kurven 1—3 wurden mit je 10 Parallelblättern, diejenigen für die Kurve 4 mit 20 Parallelblättern ausgeführt

Die erheblichen Unterschiede zwischen der Austestung von Kulturfiltraten und von reinem Lycomarasmin, und zwar in bezug auf die Art der Schädigungssymptome, auf die Lage der Regressionsgeraden und auf das Ausmaß der Streuung läßt vermuten, daß in den Kulturfiltraten neben dem Lycomarasmin noch andere wirksame Komponenten vorhanden sind. Wir werden auf diese Frage am Schluß von Abschnitt 4 zurückkommen.

2. Besteht beim *Fusarium lycopersici* ein Zusammenhang zwischen der Pathogenität in vivo und der Toxigenität in vitro?

Die parasitische Leistungsfähigkeit eines Erregers wird oft als seine Virulenz bezeichnet. Doch ist dieser Ausdruck mehrdeutig. Zuweilen deckt er sich mit der Pathogenität eines Erregers; in diesem Falle ist der *Bacillus tetani* ein für den Menschen hochvirulent Bakterium; denn er löst bei genügender Menge des Inoculum 100 % Todesfälle aus. In einem andern Sinne umfaßt jedoch die Virulenz bloß die Fähigkeit des Erregers, sich in seinem Wirt zu vermehren; Tetanusbazillen sind in diesem Falle avirulent; denn sie vermögen sich im Innern des befallenen Organismus nicht auszubreiten, sondern sie sind bloß hochgradig toxisch, hochgradig pathogen.

Um diesen Schwierigkeiten aus dem Wege zu gehen, versuchte der erstunterzeichnete Verfasser (1946) in seinem Buch „Pflanzliche Infektionslehre“ den Ausdruck Virulenz nur noch als einen Oberbegriff des praktischen Sprachgebrauchs zu verwenden und ihn für die wissenschaftliche Diskussion durch die Begriffe Aggressivität und Pathogenität zu ersetzen.

Unter Aggressivität oder Befallsenergie verstehen wir die Fähigkeit eines Erregers, seinen Wirt anzugreifen (ihn zu infizieren) ihn zu bewohnen (in ihm zu leben), seinen Widerstand zu überwinden ihn zur eigenen Ernährung zu benützen und sich in oder auf ihm zu vermehren.

Die Aggressivität setzt sich ihrerseits zusammen aus der Fähigkeit zur Infektion und aus der Fähigkeit zur Generalisation. Die Fähigkeit zur Infektion läßt sich ermessen auf Grund der Leichtigkeit, mit der eine Infektion angeht; sie entspricht dem Infektionsvermögen, der Infektionstüchtigkeit, der Ansteckungsenergie, der Fähigkeit, Infektionen zu erzeugen. Die Fähigkeit zur Generalisation läßt sich ermessen auf Grund der Leichtigkeit, mit der sich ein Erreger im Wirte, nachdem er ihn befallen hat, ausbreitet und in ihm heimisch wird.

Unter Pathogenität verstehen wir endlich die krankmachende Fähigkeit eines Erregers, seine Fähigkeit, seinen Wirt zu schädigen, z. B. in ihm abwegige Reaktionen auszulösen, Störungen in der Gestalt oder in der Funktion.

Die Ausdrücke Aggressivität und Pathogenität betrachten das Zustandekommen des parasitischen Verhältnisses vom Standpunkt des Erregers aus. Als ihr Korrelat besteht auf Seiten des Wirtes eine Infektionswiderstandsfähigkeit, eine Generalisationswiderstandsfähigkeit und eine Erkrankungswiderstandsfähigkeit.

Leider besitzen wir kein Modellbeispiel, um diese Begriffe beim pflanzenpathologischen Unterricht anschaulich darzustellen, sondern wir müssen sie gleichsam als Abstraktionen ableiten. Unsere Hoffnung, daß sich vielleicht das *Fusarium lycopersici* als ein derartiges Beispiel eignen würde, hat sich nicht erfüllt; die Pathogenität in vivo und die Toxigenität in vitro gehen im

Gegenteil beim *Fusarium lycopersici*, wie der folgende Versuch zeigen mag, völlig auseinander.

Tomatenpflanzen der stark anfälligen Sorte Bonny Best wurden nach den Angaben von Stoddard und Diamond (1948) in Quarzsand gezogen; jeden zweiten Tag erhielt jede Pflanze 25 ccm einer Nährlösung von der Konzentration 1x. Der Rest des Wasserbedarfs wurde mit Leitungswasser ersetzt.

Die Infektion erfolgte nach der Methode von Wellman (1939). Die eine Hälfte der Pflanzen wurde mit dem hochpathogenen Stamm R-5-6, die andere Hälfte mit dem schwach pathogenen Stamm 257 infiziert; beide Stämme wurden uns von Dr. T. Fontaine vom US. Department of Agriculture in Beltsville Md. zur Verfügung gestellt.

Etwa zehn Tage nach der Infektion mit dem Stamm R-5-6 beginnen die unteren Blätter zu vergilben und hernach zu welken. Die Vergilbung schreitet zum Gipfel hin weiter; die Blattspreiten weisen zum Teil schwarzbraune Flecken auf. Mit der Zeit welken auch die Blattstiele und der Stengel. Vier Wochen nach der Infektion sind sämtliche Pflanzen abgestorben. Der Pilz konnte aus sämtlichen Teilen der Pflanze (Stengel, Blattstiele, Blattnerven) bis zur Vegetationsspitze hin rückisoliert werden.

Ganz anders verhielt sich der Stamm 257. In seiner Gruppe sind bei sämtlichen Pflanzen zwar die Wurzeln angegriffen und zum Teil gebräunt; die Infektion hat also stattgefunden und haftet; aber sämtliche Pflanzen sehen nach vier Wochen noch frisch aus. Nur einige wenige Exemplare zeigen ein paar vergilbende Blätter mit welken Blattspitzen. Aus diesen Pflanzen gelang es, den Pilz rückzuisolieren, und zwar aus sämtlichen Teilen, auch aus solchen, die keine Symptome zeigen.

Das Infektionsvermögen ist somit bei den Stämmen R-5-6 und 257 gleich groß, und zwar sehr groß; denn die Infektion haftet (unter den geprüften Ernährungsbedingungen der Wirtspflanzen) bei 100 % der geprüften Individuen.

Die Fähigkeit zur Generalisation ist dagegen bei den zwei Stämmen verschieden groß: sehr groß bei Stamm R-5-6, dessen Hyphen sämtliche Individuen in sämtlichen Teilen durchziehen, und erheblich kleiner bei Stamm 257, dessen Hyphen nur etwa 10—20 % der Individuen zu durchwuchern vermögen; bei den übrigen Individuen bleibt der Infekt auf den Primärherd beschränkt.

Warum die Fähigkeit zur Streuung im Innern der Wirtspflanze bei Stamm 257 derart klein, bei Stamm R-5-6 sehr groß ist, läßt sich zur Zeit nicht entscheiden. Es mag sein, daß Stamm 257 einen stärkeren funktionellen Widerstand der Wirtsgewölbe auslöst oder auf den funktionellen Widerstand der Wirtsgewölbe empfindlicher anspricht. Es kann aber auch sein, daß Stamm 257 einfach für Tomatin empfindlicher ist; Irving, Fontaine und Doolittle (1945, 1946), Fontaine, Irving und Doolittle (1947), Fontaine, Ma, Poole c. s. (1947) und Fontaine Irving, Ma c. s.

(1948) haben nämlich gezeigt, daß die Tomatenpflanzen einen fungistatischen Stoff, das Tomatin (Lycopersicin), enthalten, der schon in großer Verdünnung das Wachstum u.a. des *Fusarium lycopersici* zu hemmen vermag und deshalb einen präformierten Faktor der Resistenz gegen den Erreger darstellt. Es wäre denkbar, daß Stamm 257 auf dieselbe Tomatinkonzentration stärker anspricht als Stamm R-5-6 und deshalb in seiner Generalisation im Innern der Tomatenpflanze stärker gehemmt wird; es wäre der Mühe wert, diese Frage einmal experimentell zu prüfen.

Endlich ist die Pathogenität, das ist die Fähigkeit, den Wirt zu schädigen, bei den zwei Stämmen noch stärker verschieden als die Fähigkeit zur Generalisation: R-5-6 ist hochgradig pathogen und führt bei sämtlichen infizierten Individuen zum Tode; Stamm 257 ist dagegen nahezu apathogen und löst nur bei einigen wenigen Individuen undeutliche Symptome aus.

Der Kern der Frage ist nun, ob bei Stamm R-5-6 die hohe Pathogenität *in vivo* und bei Stamm 257 die geringe Pathogenität *in vivo* unmittelbar mit einem unterschiedlichen Toxinbildungsvermögen korreliert sind. Dabei sind wir uns bewußt, daß man bei Mikroorganismen nicht von einem Toxinbildungsvermögen schlechthin sprechen kann; sondern das Ausmaß der Toxinbildung wechselt mit den äußeren Umständen (Ernährung, Spurenelemente usw.); deshalb kann nur die Toxinbildung unter bestimmten definierten Voraussetzungen verglichen werden.

Die beiden Pilzstämme wurden deshalb zu gleicher Zeit auf Richardscher Nährlösung kultiviert, und das Filtrat wurde auf Lycomarasmin aufgearbeitet. Als den günstigeren Fall erwarteten wir, daß der hochpathogene Stamm auch in künstlicher Kultur viel und daß der nahezu apathogene Stamm auch in künstlicher Kultur wenig Welkegift bilden würde; und als den schlimmeren Fall nahmen wir an, daß beide Stämme in künstlicher Kultur gleich viel Welkegift bilden würden, so daß ihre unterschiedliche Pathogenität *in vivo* durch ihre unterschiedliche Fähigkeit, in den Wirtsgeweben zu leben und den Widerstand der Wirtszellen zu überwinden, bestimmt würde.

Statt dessen fiel das Ergebnis nahezu umgekehrt aus: die Ernte von R-5-6 war Lycomarasmin-arm und die Ernte von 257 war sehr Lycomarasmin-reich, nämlich etwa achtmal reicher als beim Stamm R-5-6. Die Pathogenität *in vivo* und die Toxigenität *in vitro* stehen also bei diesen zwei *Fusarium*-stämmen im umgekehrten Verhältnis zu einander: der *in vivo* hochpathogene Stamm ist *in vitro* (zum mindesten auf Richardscher Nährlösung) nahezu atoxigen, und der *in vivo* nahezu apathogene Stamm ist *in vitro* stark toxigen.

Dieselbe Beobachtung konnten wir auch an zahlreichen andern Stämmen des *Fusarium lycopersici* machen: es besteht bei ihnen ganz allgemein kein Parallelismus zwischen der Pathogenität *in vivo* und der Toxigenität *in vitro*. Zu dieser Erkenntnis gelangten wir erst nach großen Zeit- und Arbeitsverlusten; denn wir hatten zu Beginn unserer Untersuchungen stets hochpathogene Stämme für die Lycomarasmingewinnung kultiviert, in der Annahme, daß

diese Stämme auch *in vitro* am stärksten toxigen sein müßten. Diese Annahme hat sich also nicht bestätigt.

Man kann sich naturgemäß über diese Diskordanz zwischen der Pathogenität *in vivo* und der Toxigenität *in vitro* allerlei Gedanken machen, die ihrerseits zugleich Arbeitshypothesen darstellen.

Als erste Frage drängt sich auf: Ist das Lycomarasmin, das wir in künstlicher Kultur gewinnen, identisch mit dem Toxin, das der Parasit im Innern des Wirtes bildet, oder ist es ein bloßes Artefakt? Diese einfache Frage läßt sich in Wirklichkeit nur schwer beantworten; denn wir besitzen kein spezifisches Mikroreagens, um Lycomarasmin im Innern der Wirtsgewebe nachzuweisen, und müßten deshalb den Identitätsnachweis durch direkte Isolierung des Lycomarasmmins aus dem Innern der Wirtspflanzen erbringen; dieser Weg ist jedoch nicht gangbar, weil die Lycomarasminkonzentration in den Preßsäften zu gering ist und weil infolgedessen die praktisch zur Verfügung stehende Preßsaftmenge für eine grobchemische Isolierung des Lycomarasmmins bei weitem nicht ausreicht.

Wir sind deshalb auf indirekte Schlußfolgerungen angewiesen. Sie stützen sich auf drei Prämissen:

1. Das Kulturfiltrat des *Fusarium lycopersici* vermag sämtliche Krankheitssymptome der infektiösen Tomatenwelke zu reproduzieren. Ferner wird die überwiegende Mehrzahl dieser Symptome auch durch das reine Lycomarasmin für sich allein ausgelöst. Es bleibt zwar, dessen sind wir uns bewußt, zwischen dem Krankheitsbild der Kulturflüssigkeit (bzw. der spontanen Erkrankung) einerseits und dem Krankheitsbild des Lycomarasmmins anderseits ein kleiner Differenzrest bestehen; so werden die charakteristischen Schädigungen der Fiederblattspitzen (Foster 1946) wohl durch das Kulturfiltrat und durch die spontane Erkrankung erzeugt, nicht aber durch das reine Lycomarasmin. Somit müssen im Kulturfiltrat bzw. im erkrankten Organismus neben dem reinen Lycomarasmin noch andere pathogene Stoffe vorhanden sein, die ihrerseits gewisse untergeordnete Einzelheiten des Krankheitsbildes bedingen. Eine derartige Stoffgruppe mögen die Glukosane sein (Hodgson, Peterson und Riker 1949; Gäumann und Jaag 1949); denn durch Zusatz von Inulin zum Lycomarasmin läßt sich das laboratoriumsmäßig erzeugte Krankheitsbild im gewünschten Sinne ergänzen: die charakteristische Veränderung der Fiederblattspitzen tritt nunmehr auch bei den Sprossen, die in reine Lösungen eingestellt sind, auf.

2. Die welkenden Sprosse von Tomatenpflanzen, die durch das *Fusarium lycopersici* befallen sind, enthalten ein Welkegift, das *in vivo* und *in vitro* dieselben Symptome, wie spontan infizierte Pflanzen sie aufweisen, auslöst. *In vivo*: Gottlieb (1943) hat bewiesen, daß die Gefäßbündelflüssigkeit aus erkrankten Tomatenpflanzen abgeschnittene Tomatensprosse wieder unter den Symptomen der infektiösen Tomatenwelke erkranken läßt; Tomatenpflanzen, die bloß wegen Wassermangel welkten, enthielten dagegen keinen derartigen Welkestoff. *In vitro*: wir konnten unsererseits zeigen, daß dieser Preßsaft aus kranken Tomatenpflanzen im Zellversuch (Gäumann, Jaag und

Braun 1947; Gäumann und von Arx 1947) dieselben pathologischen Erscheinungen auslöst wie reines Lycomarasmin; also ist ein Giftstoff, der gleich wirkt wie Lycomarasmin, in den Preßsäften erkrankter Pflanzen vorhanden. Und

3. *Fusarium lycopersici* vermag bei Kultur in verdünnten Preßsäften aus Tomatenpflanzen Lycomarasmin zu bilden; die Nährstoffe, die ihm im Preßsaft zur Verfügung stehen, reichen somit zur Synthese des Lycomarasmens aus.

Wir besitzen somit drei Prämisse: 1. Das Lycomarasmin vermag schon für sich allein die überwiegende Mehrzahl der Symptome der infektiösen Tomatenwelke auszulösen; durch Addition eines Glukosans entstehen auch noch die restlichen Symptome. 2. Der Preßsaft aus spontan erkrankten Tomatenpflanzen besitzt dieselben pathogenen Eigenschaften wie Lycomarasmin. Und 3. Der Erreger vermag in saprophytischer Kultur mit Hilfe der ihm vom Wirtse zur Verfügung gestellten Nährstoffe Lycomarasmin zu produzieren.

Auf Grund dieser drei Prämisse dürfen wir mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß das Lycomarasmin, das wir in künstlicher Kultur gewinnen, identisch ist mit dem Giftstoff, den der Pilz im Innern seines Wirtes produziert. Doch ist dies selbstverständlich nur ein Indizienbeweis; aber weiter als bis zu einem solchen werden wir, solange nicht ein spezifisches Mikroreagens für Lycomarasmin gefunden ist, kaum kommen.

Es stellt sich nun die zweite Frage: Wenn Stamm 257 in künstlicher Kultur reichlich Lycomarasmin bildet, warum tut er es nicht auch im Innern des Wirtes? Und warum bildet Stamm R-5-6 das Toxin bloß im Wirtse, aber nur in verschwindend geringer Menge in saprophytischer Kultur?

Wir gelangen hier in den Bereich der „Launen“, die jedem Antibiotiker sattsam bekannt sind. Die Mikroorganismen sprechen ja in ihrem Stoffwechsel und ihrer Toxinbildung äußerst sensibel auf ernährungsphysiologische Kleinigkeiten an. *Claviceps purpurea* bildet das Ergotinin und seine übrigen Alkaloide nur in seiner parasitischen Phase im Fruchtknoten der Gräser, aber nicht auf demselben Substrat in saprophytischer Kultur.

Penicillium chrysogenum und *Penicillium notatum* bilden nur dann Penicillin, wenn die Nährösung Zink enthält; ohne Zink bilden sie Notatin. Gewisse Rassen des *Aspergillus fumigatus* bilden bei kurzer Inkubationszeit Gliotoxin, nach langer Inkubationszeit Helvolsäure (wohl eine pH-Frage), aber beides nur auf Nährösungen vom Czapek-Typus; auf Raulin bilden sie statt dessen Fumigatin oder Spinulosin oder beides.

Dieselbe differenzierte Stimulierung oder Hemmung der Toxinbildung erfolgt offenbar auch bei den verschiedenen Stämmen des *Fusarium lycopersici* und bei andern *Fusarium*-Arten; so wird unsere Mitarbeiterin Fräulein Franziska Turel in einer späteren Arbeit zeigen, daß beim *Fusarium solani* ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen dem Wuchsstoffgehalt der Nährösung und der Toxinproduktion des Pilzes besteht.

Diese und andere Möglichkeiten müssen für unsere *lycopersici*-Stämme erst noch geprüft werden. Sicher steht zur Stunde nur, daß im Falle des *Fusarium lycopersici* die parasitische Eignung des Erregers nicht unmittel-

bar auf Grund seines Verhaltens in saprophytischer Laboratoriumskultur beurteilt werden kann.

3. Die dosis minima

Unter der dosis minima oder der „wirksamen Dosis“ verstehen wir die Giftmenge, die (bei einer bestimmten Konzentration) je Kilogramm Lebendgewicht notwendig ist, um unter bestimmten äußeren Bedingungen ein bestimmtes Ausmaß von irreversiblen Schädigungen, im vorliegenden Falle von irreversiblen Welkesymptomen auszulösen.

Die von uns befolgte Arbeitsmethode wurde bei Gäumann und Jaag (1949) beschrieben. Für die vorliegenden Versuche wurde die Tomatensorte Tuckswood verwendet mit Sprossen von einem Frischgewicht in der Größenordnung von 20 g. Raumtemperatur 22°C; rel. Feuchtigkeit rund 60%. Zehn Fluoreszenzlampen.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Vier Gesichtspunkte scheinen wesentlich zu sein, a) die Lage der dosis minima, ferner der Einfluß der Konzentration b) auf die Ausprägung der Krankheitssymptome, c) auf die Aufnahmezeit und d) auf die Latenzzeit.

Tabelle 1
Die Lage der dosis minima von reinem Lycomarasmin bei Tomatenpflanzen

Konzentration	Ungefährre Aufnahmzeit in Stunden	Ungefährre Lage der dosis minima mg	Symptome
10-2,5 molar	3	150	Nach 2 Tagen: Überall auf den Blättern verstreut kleinere, braune, dürre Flecken, oft nicht größer als ein Quadratmillimeter. Nach 4 Tagen: Untere Blätter vergilben, einige Fiedern sterben ab.
10-3 molar	12-17	100-150	Nach 2 Tagen: Wenige kleine braune Flecken an einigen Blattfiedern. Nach 4 Tagen: Flecken ausgedehnter. Größere Blattpartien beginnen zu welken.
10-3,5 molar	50	100	Nach 2 Tagen: Einige Blattspitzen schlaff, schwache Flecken. Nach 4 Tagen: Verhältnismäßig starkes Welken der meisten Blätter, besonders von der Blattspitze her.
10-4 molar	70	50-70	Nach 3 Tagen: Einige Blattfiedern erschlaffen. Nach 4 Tagen: Dasselbe ausgeprägter. Undeutliche Flecken. Absterben der Blattfiedern.

a) Die Lage der dosis minima

Hier ist zu unterscheiden zwischen reinem Lycomarasmin und Lycomarasmin in Verbindung mit Eisen (siehe unter 4.).

Beim reinen Lycomarasmin schwankt die dosis minima in Tabelle 1 zwischen 50 und 150 mg je Kilogramm Lebendgewicht. Dieser Wert ist für ein Exotoxin sehr hoch. Beim Diphtherietoxin beträgt die minimale

letale Dosis für ein Meerschweinchen rund 2 Gamma je Kilogramm Lebendgewicht (Zinsser, Enders und Fothergill 1941). Es braucht also beim System Lycomarasmin-Tomatenpflanze zur Erzielung eines letalen Effektes rund 50 000 mal mehr Substanz als beim System Diphtherietoxin-Meerschweinchen.

Diese geringe Giftigkeit der pilzlichen Welketoxine für den pflanzlichen Körper, gemessen an der Giftigkeit gewisser bakterieller Toxine für den tierischen Körper, hängt wohl vor allem mit dem unterschiedlichen Mechanismus der beiden pathogenen Agenzien zusammen.

Die hier in Frage kommenden bakteriellen Toxine (Gale 1947) wirken entweder als Enzyme (so das Alphatoxin des *Clostridium Welchii* als Lezithinase) oder als Inhibitoren von wirtseigenen Enzymen (?Tetanus, Botulinus). Sie werden also während ihrer Tätigkeit nicht „verbraucht“, sondern wirken nach dem Prinzip der Kettenreaktion immer weiter. Ferner bedingt ihre Verflechtung mit dem enzymatischen Geschehen des Wirtes eine weitgehende elektive Affinität für gewisse Gewebe oder Organe des Wirtes. Die Umrechnung der applizierten Toxinmenge auf das gesamte Lebendgewicht des Versuchsobjektes ergibt deshalb eine irreelle Größe.

Anders bei den pflanzlichen Welketoxinen. Gewiß besteht auch hier eine Prädilektion bestimmter Gewebe für bestimmte Toxine: es gibt auch bei den Pflanzen bestimmte gewebespezifische Affinitäten und organspezifische Symptome, die nicht einfach auf Grund des Transportweges der Toxine deutet werden können; da aber der pflanzliche Körper ungleich niedriger organisiert ist als der tierisch-menschliche, so steht auch die Toxinprädilektion im Pflanzenreich auf einer ungleich niedrigeren Stufe: die bevorzugten Angriffspunkte des Giftes sind z. B. die Blatt„spreiten“ oder der Blatt„stiell“ oder der „Stengel“. Dazu kommt, daß die pflanzlichen Welketoxine während ihrer Einwirkung auf den pflanzlichen Körper verbraucht werden und verschwinden (zum mindesten das Patulin, wie G. Miescher in einer demnächst erscheinenden Arbeit zeigen wird), so daß im extremen Falle beim Erreichen der dosis minima noch kein freies Toxin in den Preßsäften nachgewiesen werden kann.

Der große Unterschied zwischen dem Wirkungsgrad unserer pflanzlichen Welketoxine und den stupenden Lehrbuchbeispielen bakterieller Exotoxine der Humanmedizin liegt also in ihrem ganz andern Mechanismus begründet. Ziehen wir jedoch in der Humanmedizin Gifte des gleichen Wirkungstypus wie unsere pflanzlichen Welketoxine zum Vergleich heran, dann ordnen sich unsere Schwellenwerte ohne weiteres den entsprechenden Werten der Pharmakologie ein. Bei den industriellen Chemotherapeutica wird als Faustregel ein Schwellenwert von 50 mg je Kilogramm Lebendgewicht als mittlere Toxizität bezeichnet. Beim Alkohol liegt die dosis toxica, die eine deutliche Exzitation bewirkt, bei etwa 500 mg je Kilogramm Lebendgewicht; bei Veronal liegt die wirksame Dosis bei etwa 150 mg je Kilogramm Lebendgewicht, bei Äther bei 1300 mg und bei Chloroform bei etwa 350 mg je Kilogramm, nur diesmal bezogen auf die Konzentration im Blute.

Die Dimension der wirksamen Dosen ist also in beiden Fällen, bei den pflanzlichen Welketoxinen und bei den Allgemeingiften der Humanmedizin, ungefähr dieselbe.

b) Der Einfluß der Konzentration auf die Ausprägung der Krankheitssymptome

Tabelle 1 zeigt eine merkwürdige Beziehung zwischen der Giftkonzentration und der Lage der *dosis minima*. Mit steigender Konzentration nimmt nämlich die minimale Dosis zu: bei der Konzentration von 10^{-1} molar reines Lycomarasmin braucht es rund 50—70 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht, um die Laubblätter irreversibel zu schädigen, bei der Konzentration von $10^{-2,5}$ molar dagegen rund 150 mg, also rund dreimal mehr.

In der Konzentration von $10^{-2,5}$ molar reines Lycomarasmin werden umgekehrt bei der Aufnahme von 50 mg je Kilogramm Lebendgewicht nur die Spitzen der Endfiedern oder einige Interkostalfelder geschädigt, während, falls dieselbe Giftmenge in der Konzentration von 10^{-4} molar verabreicht wird, einige Laubblätter (meist die drei untersten) schon absterben.

Dieses Ergebnis ist überraschend und widerspricht den allgemeinen Erfahrungen der Pharmakologie (z. B. Clark 1937), wonach die Konzentrations-Wirkungs-Relation entweder linear oder hyperbolisch mit der Konzentration zunimmt (Massenwirkungsgesetz) oder dem Alles-oder-Nichts-Schema folgt (bis zur Überschreitung des Schwellenwertes keinen Effekt zeigt und dann mit einem plötzlichen Sprung auf das Maximum der Wirksamkeit hinaufschneilt). Eine Abnahme der Wirksamkeit mit steigender Konzentration scheint dagegen in der Humanmedizin nicht bekannt zu sein. Wir fragen uns deshalb nach den möglichen Ursachen dieses abnormalen Verhaltens des Lycomarasmins in den Tomatenpflanzen.

Eine erste Ursache liegt wahrscheinlich in den Transportverlusten. In der Konzentration von $10^{-2,5}$ molar wird die kritische Lycomarasminmenge schon innerhalb dreier Stunden aufgenommen und in die Blätter transportiert. Bei diesem überstürzten Transport geht zweifelsohne verhältnismäßig viel Substanz unterwegs verloren, bleibt an den Querwänden der Gefäße und am Netzwerk der Gefäßwände haften, wird adsorbiert usw. In der fünfzehnmal verdünnteren Lösung (10^{-4} molar Lycomarasmin) dauern dagegen Aufnahme und Transport rund 70 Stunden, also gut zwanzigmal länger; aus einer derart langsam aufsteigenden, verdünnten Lösung bleibt zweifelsohne in den Wasserleitungsbahnen prozentual weniger Material liegen als in der heftig wirkenden konzentrierten Substanz.

Zugunsten dieser Deutung, daß die Degression der Schadwirkung mit steigender Konzentration zum Teil auf bloßen mechanischen Transportverlusten im Innern der Wasserleitungsbahnen der Versuchspflanzen beruht, sprechen auch die Erfahrungen mit der Inulinwelke (Gäumann und Jaag 1949). Auch hier liegen nämlich die Schwellenwerte bei der Inulinkonzentration von 10^{-3} molar erstaunlich höher als bei der Konzentration von 10^{-4} molar: es braucht also bei einer stärkeren Inulinkonzentration etwas mehr Substanz, um denselben Effekt hervorzubringen als bei einer zehnmal schwächeren Konzen-

tration; auch die Deutung dieses Phänomens wurde in den Transportverlusten gesucht.

Eine zweite Ursache für die scheinbare Abnahme der Wirksamkeit des Lycomarasmins mit steigender Konzentration liegt möglicherweise in der unterschiedlichen Aufnahmezeit und in der dadurch veränderten Zeitspanne für Nebenreaktionen. Nach unsren früheren Untersuchungen (Gäumann und Jaag 1947) erfolgt die Schockwirkung, die wahrscheinlich mit dem Eintritt des Lycomarasmins in das Plasma zusammenfällt, bei der 10^{-2} und 10^{-3} molaren Lycomarasminkonzentration schon innerhalb zweier Stunden nach der Übertragung der Versuchspflanzen in die Giftlösung. Die Vergiftung der gesamten Plasmakörper ist also schon 2 Stunden nach der Übertragung der Versuchspflanzen vollzogen, und wir stellen uns deshalb vor, daß bei einem derart raschen, fast schlagartigen Ablauf des Krankheitsgeschehens das Lycomarasmin als solches wirkt.

Anders in der Konzentration von 10^{-4} molar Lycomarasmin. Hier dauert es rund 70 Stunden, bis die dosis minima aufgenommen ist, und wir vermuten, daß in diesem Falle genügend Zeit für eine ausgiebige Reaktion des Lycomarasmins mit den Eisenionen des Plasmas und für die Bildung des im nächsten Abschnitt zu besprechenden zehnmal giftigeren Lycomarasmin-Eisen-Komplexes zur Verfügung steht. Bei der Konzentration von 10^{-4} molar würde deshalb das Lycomarasmin teilweise nicht mehr als reines Lycomarasmin, sondern als der zehnmal giftigere Lycomarasmin-Eisen-Komplex wirken; deshalb ist ceteris paribus bei geringerer Konzentration weniger Lycomarasmin zur Erzielung desselben Effektes notwendig als bei hoher Konzentration.

c) Der Einfluß der Konzentration auf die Aufnahmezeit

Nach Tabelle 1 wird die dosis minima, die eben ausreicht, um die drei untersten Laubblätter irreversibel zu schädigen, bei der Konzentration von $10^{-2,5}$ molar Lycomarasmin innerhalb rund 3 Stunden aufgenommen, bei der Konzentration von 10^{-4} molar dagegen innerhalb rund 70 Stunden. Die ersten Schädigungssymptome können jedoch bei den Versuchspflanzen schon nach 12—15 Stunden auftreten; dies hat zur Folge, daß bei den niederen Konzentrationen die Aufnahmezeit für jene Stufe der dosis minima, die eben ausreicht, um einige Laubblätter irreversibel zu schädigen, länger ist als die Zeit, die es braucht, um bei den Versuchspflanzen überhaupt erste Symptome auszulösen; die Aufnahmezeit lappt deshalb bei den niederen Konzentrationen über die Latenzzeit hin.

Infolgedessen ist es bei den niederen Konzentrationen gar nicht möglich, beliebig große Giftmengen sinnvoll in die Pflanzen hineinzubringen; sondern die experimentellen Möglichkeiten erhalten hier rein versuchstechnisch eine enge Grenze durch den Umstand, daß wir das Gift nicht mit mechanischer Gewalt in den pflanzlichen Körper einspritzen können, sondern es durch die Pflanze in ihrem eigenen Rhythmus aufnehmen lassen müssen. Sobald jedoch die Erkrankung einmal manifest eingesetzt hat, besitzt eine weitere Giftaufnahme nur noch einen problematischen Wert.

d) Der Einfluß der Konzentration auf die Latenzzeit

In Tabelle 1 fällt ferner auf, daß Bräunungen, Gewebezerfall usw. bei sämtlichen vier Konzentrationen nach Ablauf derselben Latenzzeit auftreten: nach etwa 2 Tagen werden postmortale Erschlaffungen und Bräunungen sichtbar, und nach etwa 3—4 Tagen hat die Schädigung ihr größtes Ausmaß erreicht. Die Unterschiede in der Lycomarasmin-Konzentration wirken sich also nur auf das Ausmaß der Schädigungen, dagegen nicht auf die Dauer der Latenzzeit aus.

Diese Erscheinung widerspricht der Zeit-Konzentrations-Relation der Pharmakologie, bei der die Zeitspanne zwischen dem Beginn der Giftwirkung einerseits und der biologischen Antwort anderseits mit steigender Konzentration in gesetzmäßiger Weise abnimmt. Wir möchten die Erklärung für das abnorme Verhalten der Lycomarasmin-vergifteten Tomatenpflanzen darin suchen, daß die Schädigungsmerkmale, die wir als Indizes verwenden, ausschließlich auf postmortalen Veränderungen beruhen; denn wir beobachten nicht unmittelbar den Eintritt der Schädigung in den Plasmakörpern oder den Zelltod, sondern den grobsinnlichen postmortalen Zerfall ganzer Gewebe (z. B. der Interkostalfelder) oder Organe (z. B. der Blattstiele).

Eine postmortale Bräunung z. B. der Interkostalfelder, die ja auf allen möglichen Nebenreaktionen beruht, kann jedoch keine feine Nuancierung der Zeit-Konzentrations-Relation anzeigen. Wenn also in Tabelle 1 die Lycomarasmin-Konzentration keinen sichtbaren Einfluß auf die Latenzzeit ausübt, so liegt der Grund offensichtlich darin, daß wir mit unsren Beobachtungsmethoden das eigentliche Ende der Latenzzeit gar nicht erfassen, sondern spätere postmortale Stadien notieren.

4. Der Lycomarasmin-Eisen-Komplex

Aus Analogie zu den Eisenporphyrinen (Cytochromgruppe) hatten wir zu Beginn unserer Untersuchungen dem Lycomarasmin versuchsweise 2% Eisenchlorid zugesetzt und beobachtet, daß dadurch die Giftigkeit des Lycomarasin deutlich gesteigert wird. Wir haben seither versucht, diesem Aktivatoreffekt des Eisens etwas näherzukommen.

In Tabelle 2 wurde 10^{-3} molares Lycomarasmin mit verschiedenen Molaritäten von Eisenchlorid kombiniert und dann mit Leitungswasser in den Stufen 1:1 bis 1:15 (also 1 Teil Lösung + 15 Teile Wasser) verdünnt. Eisenchlorid wirkt für sich allein in den Konzentrationen von 10^{-3} und 10^{-4} molar nicht giftig, auch wenn die zehnfache Menge Substanz, die für Tabelle 2 in Frage kommt, aufgenommen wird; dagegen schädigt 10^{-2} molares Eisenchlorid die Gefäße ziemlich rasch und führt zu Bräunungen.

Die Versuchsfrage für die Bestimmung der *dosis minima* beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex lautet deshalb: Welche Ausprägung des Krankheitsbildes tritt nach 48 Stunden bei abgeschnittenen Tomatenblättern im Licht bei einer Umwelttemperatur von 24° auf, wenn dauernd ein Gemisch von Lycomarasmin mit verschiedenen Mengen Eisenchlorid nachgeschoben wird?

Die Welkeintensitäten wurden an Hand der in § 1 beschriebenen Skala mit 0—4 bewertet. Die in Tabelle 2 eingetragenen Zahlen sind, wie üblich, arithmetische Mittel aus je zehn Parallelen. Von jeder Kombination wurden zu verschiedenen Zeiten zwei parallele Reihen durchgeführt; sie geben zugleich einen Einblick in den verhältnismäßig geringen Schwankungsbereich der Methode.

Tabelle 2
Die Giftigkeit von Lycomarasmin mit verschiedenen Zusätzen von Eisen

Molare Konzentration Lycomarasmin + $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		Mittlere Welkeintensität bei der Verdünnung				
		unverdünnt	1:1	1:3	1:7	1:15
10 ⁻³	0	1,9	1,0 1,1	0,4 0,2	0,1 0	0 0
10 ⁻³	10 ⁻⁵	1,8	1,0 0,7	0,2 0,3	0 0,3	0 0
10 ⁻³	10 ⁻⁴	4,0	3,2 2,8	2,3 1,1	0,4 0,1	0 0
10 ⁻³	10 ⁻³	4,0	3,8 4,0	2,5 3,0	2,0 1,8	1,0 0,3
10 ⁻³	10 ⁻²	4,0	3,9 2,7	0,3 0	0 0,4	0 0

Tabelle 2 zeigt, daß die höchste Giftigkeit unzweifelhaft vom äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Gemisch erreicht wird, also bei der Mischung von gleichen Molaritäten Lycomarasmin und Eisenchlorid. Wir möchten daraus schließen, daß das Eisen nicht irgendwie als Aktivator oder als vorübergehendes Glied einer Kettenreaktion mitwirkt, sondern mit dem Lycomarasmin eine neue Verbindung eingeht, also einen Lycomarasmin-Eisen-Komplex bildet, der erheblich giftiger ist als das reine Lycomarasmin für sich allein oder als das Eisenchlorid für sich allein oder als die Summation von Lycomarasmin plus Eisenchlorid.

Es mag auffallen, daß am Fuße der Tabelle 2 die Kombination 10⁻³ molares Lycomarasmin plus 10⁻² molares Eisenchlorid weniger giftig zu sein scheint als die äquimolare Lycomarasmin-Eisen-Kombination. Dies hängt wahrscheinlich mit der besonderen Wirkung des konzentrierten Eisenchlorides zusammen, das die Leitungsbahnen schädigt und dadurch die weitere Aufnahme von Lösung verhindert.

Es fragt sich nunmehr, ob wirklich, wie wir vermuten, beim Zusatz von Eisenchlorid zum Lycomarasmin das Kation den Aktivatoreffekt ausübt oder ob die beobachtete Giftigkeitssteigerung nicht vielmehr vom Chlor herührt. Um dies zu prüfen, wurden Eisenchlorid, Eisensulfat, Kupferchlorid und Kupfersulfat in äquimolaren Mengen dem Lycomarasmin zugesetzt, und die Lösung wurde in der Konzentration von 10⁻³ molar, ähnlich wie in Tabelle 2, auf ihre Giftwirkung untersucht. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 3.

Tabelle 3
Die Giftigkeit des Lycomarasmins bei äquimolarem Zusatz verschiedener Metallsalze
Untersuchte Konzentration 10^{-3} molar

Zusatz von	Mittlere Welkeintensität bei der Verdünnung					
	unverdünnt	1 : 1	1 : 3	1 : 7	1 : 15	1 : 31
FeCl ₃	4	4	3,6	1,4	0,8	0,3
Fe ₂ (SO ₄) ₃	4	4	2,9	1,4	0,6	0,1
CuCl ₂	2,1	1,3	0,5	0,3	0	0
CuSO ₄	1,8	1,5	0,5	0	0	0
Kontrolle (reines Lyco- marasmin)	1,9	1,0	0,4	0,1	0	0

Zwischen dem Eisenchlorid und dem Eisensulfat besteht kein Unterschied in der Welkewirkung; anderseits wird der Welkeeffekt des Lycomarasmins durch den Zusatz der beiden Kupfersalze nicht erhöht. Es ist also wirklich das Eisen-Ion, das mit dem Lycomarasmin einen Komplex eingeht und dadurch seine Toxizität steigert.

Um die Giftigkeit des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes gegenüber derjenigen von reinem Lycomarasmin abzugrenzen, wurde für das äquimolare Lycomarasmin-Eisenchlorid-Gemisch die dosis minima bei verschiedener Konzentration in der gleichen Weise wie für Tabelle 1 bestimmt. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 4. Sie lassen erkennen, daß die dosis minima bei den Konzentrationen von 10^{-3} bis $10^{-4,5}$ molar ungefähr bei $10-15$ mg Toxin je kg Lebendgewicht liegt. Der Lycomarasmin-Eisen-Komplex ist somit ungefähr zehnmal giftiger als das reine Lycomarasmin.

Tabelle 4
Die Lage der dosis minima des äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplexes
bei fallenden Konzentrationen

Konzentration	Ungefähr Aufnahmzeit in Std.	Durchschnittlich aufgenommene Lyco- marasmin-Eisen-Menge je kg Frischgewicht mg	Wirkung nach 3 Tagen
10^{-3} molar	1-2	10	An sämtlichen Blättern vereinzelt typische Flecken
	2-3	20	Ausgedehnte Flecken an sämtlichen Blättern. Allgemeines starkes Welken.
10^{-4} molar	20	25	An sämtlichen Blättern kleine Flecken. Allgemeines starkes Welken.
$10^{-4,5}$ molar	70	15	Untere Blätter vereinzelte größere Flecken.

Die Situation ist also beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex grundsätzlich verschieden von derjenigen bei der Kombination von Lycomarasmin mit einem Glukosan (Gäumann und Jaag 1949). Bei der Kombination von Lycomarasmin mit einem Glukosan erfolgt eine einfache Summation der Wir-

kungen. Die beiden Stoffe wirken gleichzeitig nebeneinander als Lycomarasmin und z. B. als Inulin und es können z. B. Symptome, die dem Lycomarasmin fremd sind, durch die gleichzeitige Applikation von Inulin (gleich wie wenn es für sich allein wirken würde) zusätzlich hervorgerufen werden; aber das Lycomarasmin ist an sich nicht giftiger und das Inulin ist auch nicht giftiger als es vorher war. Bei der Kombination von Lycomarasmin mit Eisen entsteht dagegen eine neue Verbindung; das Lycomarasmin wirkt nicht mehr als Lycomarasmin und das Eisen wirkt nicht mehr als Eisen, sondern sie wirken gesamthaft in Gestalt eines neuen Komplexes.

Wenn aber dieser Lycomarasmin-Eisen-Komplex quantitativ ungefähr zehnmal giftiger ist als reines Lycomarasmin für sich allein oder als Eisenchlorid für sich allein oder als die Summation Lycomarasmin plus Eisenchlorid, so stellt sich auch die Frage, ob dieser neue Komplex qualitativ ein anderes Wirtsspektrum besitzt als das reine Lycomarasmin. Wir haben deshalb die Versuche, die Gäumann und Jaag (1949) für die Bestimmung des Wirtsspektrums des reinen Lycomarasmins beschrieben, für das äquimolare Lycomarasmin-Eisenchlorid-Gemisch wiederholt.

Die Tabelle 5 ordnet die Versuchspflanzen nach fallender Empfindlichkeit an. Die Unterschiede gegenüber reinem Lycomarasmin sind sowohl von qualitativer als (innerhalb des Wirtsspektrums) von quantitativer Art (siehe S. 276).

Qualitative Verschiedenheiten. *Gossypium herbaceum*, *Pisum sativum*, *Ricinus communis*, *Lupinus polyphyllus* und *Impatiens Holstii* erfahren durch das reine Lycomarasmin keine sichtbare Schädigung; dagegen werden sie durch den Lycomarasmin-Eisen-Komplex stark geschädigt; *Gossypium herbaceum* und *Pisum sativum* werden sogar abgetötet. Das Wirtsspektrum des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes ist somit weit größer als dasjenige des reinen Lycomarasmins: Das reine Lycomarasmin wirkt hochgradig spezifisch, der Lycomarasmin-Eisen-Komplex verhältnismäßig unspezifisch. Einzig *Sparmannia africana* spricht auf beide pathogenen Agenzien (reines Lycomarasmin und Lycomarasmin plus Eisen) nicht an.

Diese Tatsache, daß der Lycomarasmin-Eisen-Komplex ein eigenes, von demjenigen des reinen Lycomarasmins verschiedenes Wirtsspektrum besitzt, spricht erneut für die Auffassung, daß durch die Mischung von Lycomarasmin mit Eisenchlorid eine neue chemische Verbindung sui generis entsteht: sie schafft ein neues Spektrum, das weder dem Lycomarasmin für sich allein noch dem Eisenchlorid für sich allein zukommt, noch eine Summation der beiden Wirkungen darstellt.

Quantitative Verschiedenheiten innerhalb des Wirtsspektrums. *Pelargonium zonale* Sorte Meteor und gewisse Bastarde aus der Gattung *Vitis* (so *Vitis vinifera* Sorte Gamay \times *Vitis riparia*) sind für das reine Lycomarasmin empfindlicher als die Tomatenpflanzen selbst (Gäumann und Jaag 1949, Tabelle 4 und 5). Diese biologisch erstaunliche Tatsache.

Tabelle 5

Das Wirtsspektrum des Lycomarasin-Eisen-Komplexes in der Konzentration von 10^{-3} molar (Temperatur 24,0—24,5°C; rel. Feuchtigkeit rund 60%; 10 Fluoreszenzlampen). Verwendet wurden abgeschnittene Sprosse. Die Ablesung erfolgte nach 8, 25, 48 und 72 Stunden

Wirtspflanze	nach 8 Stunden	nach 25 Stunden	nach 48 Stunden	nach 72 Stunden
<i>Tomate Tuckswood . . .</i>	Sämtliche Fiederblätter am Rande gerollt	Alle Individuen tot	—	—
<i>Pelargonium zonale, Sorte Meteor . . .</i>	Die Hälfte der Blätter welk	Pflanzen tot	—	—
Direktträgerrebe.	Sämtliche Blätter mehr oder weniger geschädigt	Sämtliche Blätter vertrocknend und brüchig	Pflanzen tot	—
<i>Gossypium herbaceum . . .</i>	Keine Wirkung feststellbar	Die Blätter rollen sich ein und sind deutlich geschädigt	Die Blätter beginnen zu verdorren	Pflanzen tot
<i>Pisum sativum . . .</i>	Keine Wirkung feststellbar	Einzelne Blättchen geschädigt	Pflanzen tot	—
<i>Brassica Napus</i>	Keine Wirkung feststellbar	Sämtliche Blätter deutlich geschädigt	Pflanzen tot	—
<i>Ricinus communis . . .</i>	Keine Wirkung erkennbar	In den peripheren Partien der Blattstreifen vereinzelt Flecken	Flecken größer werdend	Einzelne Blätter wahrscheinlich absterbend
<i>Lupinus polyphyllus . . .</i>	Keine Wirkung erkennbar	Keine Wirkung erkennbar	Fleckbildung an einigen Blättchen	Sämtliche Blättchen im äußeren Drittel stark geschädigt
<i>Impatiens Holstii . . .</i>	Keine Wirkung erkennbar	Keine Wirkung erkennbar	Untere Blättchen etwas gerollt, offenbar am Rande geschädigt	Sämtliche Blätter stark geschädigt
<i>Nicotiana tabacum . . .</i>	Keine Wirkung erkennbar	Keine Wirkung erkennbar	Ein Blatt am Rande etwas gerollt	Einige Blätter geschädigt (Fleckbildung)
<i>Sparmannia africana . . .</i>	Keine Wirkung erkennbar	Keine Wirkung erkennbar	Keine Wirkung erkennbar	Keine Wirkung erkennbar

daß Pflanzenarten, die eine bestimmte Krankheit gar nicht kennen, für das Toxin des betreffenden Erregers empfindlicher sind als der natürliche Hauptwirt, erfährt durch die Tabelle eine gewisse Ergänzung: die hohe Empfindlichkeit der beiden artifiziellen Wirte gilt nur für das reine Lycomarasin, dagegen nicht für den Lycomarasin-Eisen-Komplex, der sich wahrscheinlich in den Pflanzen stets spontan bildet.

Wir fragen uns nunmehr: Gibt es Anhaltspunkte, um zu vermuten, daß das Lycomarasin tatsächlich im Innern der Wirtspflanze mit den Eisenionen des Wirtes reagiert und mit ihnen den zehnmal giftigeren Lycomarasin-Eisen-Komplex eingeht? Diese Frage ist schwierig zu beantworten; denn es gibt experimentell wohl eisenfreie Lösungen, aber keine eisenfreie Wirkung des Lycomarasins: das Lycomarasin wirkt ja stets in einem

eisenhaltigen Substrat, dem Zellsaft, und eine unmittelbare Isolierung des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes aus dem Preßsaft der Wirtspflanzen ist aus den S. 266 dargelegten Gründen nicht möglich.

Ein Hinweis auf die Möglichkeit der Entstehung des zehnmal giftigeren Lycomarasmin-Eisen-Komplexes im Innern der Wirtspflanze ergab sich jedoch schon auf S. 268 im Anschluß an Tabelle 1: wird das Lycomarasmin von der Wirtspflanze in einer stark verdünnten Lösung (10^{-4} molar) und deshalb sehr langsam, im Verlauf von 70 Stunden, aufgenommen, so beträgt die dosis minima nur etwa ein Drittel der Menge, die bei stärkerer Konzentration ($10^{-2,5}$ molar) und entsprechend kürzerer Aufnahmezeit (3 Stunden) aufgewendet werden muß; im ersten Fall wirkt also das Lycomarasmin dreimal giftiger als im letzteren, und wir stellten uns vor, dies röhre davon her, daß das Lycomarasmin im Verlaufe der 70 Stunden Zeit habe, im Innern der Wirtspflanze einen Teil des locker gebundenen Eisens abzulösen und mit ihm den giftigen Lycomarasmin-Eisen-Komplex einzugehen.

Um dies zu prüfen, ließen wir die Tomatenpflanzen bestimmte Lycomarasminmengen fraktioniert aufnehmen:

Die erste Versuchsgruppe nimmt 150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht in der Konzentration von $10^{-2,5}$ molar in einem Zuge auf (Aufnahmedauer bei den meisten Exemplaren etwa 5 Stunden).

Die zweite Versuchsgruppe nimmt dieselbe Giftmenge in derselben Konzentration in drei Portionen von je 50 mg Lycomarasmin je Kilogramm Frischgewicht auf, verabreicht in 18ständigen Intervallen, während welcher die Pflanzen in Leitungswasser zurückgestellt werden.

Die dritte Versuchsgruppe nimmt bloß 50 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht auf, und zwar a) in der Konzentration von 10^{-4} molar, und b) in einem Zuge (Aufnahmedauer im allgemeinen etwa 3 Tage).

Ergebnisse nach 4 Tagen:

Die erste Pflanzengruppe zeigt an den unteren Blättern ein deutliches Welken, an den mittleren Blättern einige schwache, undeutliche Flecken.

Die zweite Pflanzengruppe zeigt eine viel stärkere Schädigung; die diffusen Flecken treten bis zu den jüngsten Blättern hinauf zutage, desgleichen die Welkescheinungen an den Fiederblattspitzen. In den folgenden zwei Tagen nehmen die Welkesymptome noch kräftig zu.

Bei der dritten Pflanzengruppe sind die unteren und mittleren Blätter größtenteils schon abgestorben und gewelkt. Die obersten Blätter zeigen zahlreiche undeutliche Flecken.

Den weitaus stärksten Welkeeffekt weist somit die dritte Pflanzengruppe auf (Aufnahme von 50 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht in der Konzentration von 10^{-4} molar innert rund 3 Tagen). Dann folgt mit Abstand die zweite Gruppe (Aufnahme von 150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht in drei Fraktionen mit je einem Intervall von 18 Stunden). Weitaus am schwächsten ist der Welkeeffekt in der ersten Pflanzengruppe, welche die 150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht rasch in einem Zuge aufnahm.

50 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht lösen somit bei langsamer Aufnahme (innerhalb rund 3 Tagen) viel schwerere Krankheitssymptome aus als die dreifache Giftmenge (150 mg je Kilogramm Lebendgewicht) bei rascher Aufnahme (rund 5 Stunden), und dieselbe Giftmenge (150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht) löst bei gedehnter (fraktionierter) Aufnahme heftigere Symptome aus als bei kurzer, ununterbrochener Aufnahme. Die Dauer der Aufnahme- und Einwirkungszeit des Lycomarasmmins ist also (innerhalb eines bestimmten Rahmens) ein ebenso wesentlicher Faktor für die Ausprägung der Krankheitssymptome wie die Menge des aufgenommenen Welketoxins.

Wir stellen uns vor, daß die Pflanzen im Falle der Versuchsgruppe 1 durch die rasch hereinströmende Toxinmenge einfach überrannt werden; die früheren Untersuchungen über die physiologischen Voraussetzungen des Welkeeffektes (Gäumann und Jaag 1946, 1947) zeigten ja, daß bei einer Versuchsanordnung, wie sie für die erste Pflanzengruppe gewählt wurde, die maximale Schockwirkung schon innerhalb zweier Stunden erreicht wird, also innerhalb einer sehr kurzen Zeit.

Die Herauslösung des Eisens aus seiner lockeren Bindung und die Umlagerung in den Lycomarasmin-Eisen-Komplex kann unter diesen Voraussetzungen nur in einem unwesentlichen Ausmaß erfolgen; deshalb wirkt das Lycomarasmin bloß als das zehnmal weniger giftige reine Lycomarasmin (dosis minima für reines Lycomarasmin 100—150 mg je Kilogramm Lebendgewicht; dosis minima für den Lycomarasmin-Eisen-Komplex rund 10—15 mg je Kilogramm Lebendgewicht).

Anders bei langsamer Giftaufnahme. Hier reicht die Zeit offenbar aus, um den zehnmal giftigeren Lycomarasmin-Eisen-Komplex zu bilden. Darum sind 50 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht bei langsamer Aufnahme weit giftiger als die dreifache Menge (150 mg) bei rascher Aufnahme: bei rascher Aufnahme wirkt das Lycomarasmin nur als solches; also wird mit 150 mg je Kilogramm Lebendgewicht nur gerade die dosis minima verabreicht. Beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex liegt dagegen die dosis minima bei 10—15 mg je Kilogramm Lebendgewicht; mit 50 mg Lycomarasmin haben wir also, falls die gesamte Menge in den Eisenkomplex übergeführt wird, die 3—4fache Menge der dosis minima verabreicht; dadurch wird verständlich, daß die Symptome auch dementsprechend schwerer sind.

Durch die Annahme, daß das Lycomarasmin bei langsamer Aufnahme im Zellinnern den zehnmal giftigeren Lycomarasmin-Eisen-Komplex eingeht, wird die überraschende Tatsache, daß 50 mg Lycomarasmin bei langsamer Aufnahme giftiger wirken als 150 mg bei rascher Aufnahme, ungezwungen erklärt: das entscheidende Moment liegt im Faktor Zeit.

Doch dürfte dieser Faktor Zeit wohl nur in unseren Laboratoriumsexperimenten, wo wir mit dem reinen Gift arbeiten und wo die Aufnahme- und Einwirkungszeit des Giftes unnatürlich kurz sind, eine Bedeutung haben. Bei spontan infizierten und spontan erkrankenden Pflanzen vergehen ja 10 bis

14 Tage, bis die ersten Vergiftungs- (Welke-) Symptome auftreten; d. h. es vergehen 10—14 Tage, bis der Pilz die dosis minima des Welketoxins gebildet hat; und ebenso lange ist ungefähr die Zeitspanne, die für die Umsetzungen des Lycomarasmins mit den Eisenionen zur Verfügung steht, im Gegensatz zu rund 3—5 Stunden bei den Laboratoriumsexperimenten mit Lycomarasminkonzentrationen von 10^{-2} und $10^{-2.5}$ molar. Soweit also der Faktor Zeit in Betracht kommt, dürfte bei den spontan erkrankenden Pflanzen das gesamte Lycomarasmin in den giftigen Lycomarasmin-Eisen-Komplex übergeführt werden, und es dürfte somit eine rund zehnmal geringere Lycomarasminmenge als in unseren Laboratoriumsversuchen genügen, um denselben Erkrankungseffekt hervorzurufen wie bei unseren Lycomarasminkonzentrationen von 10^{-2} und $10^{-2.5}$ molar.

Es stellt sich nun aber auch die umgekehrte Frage: Reicht die im Wirte zur Verfügung stehende Eisenmenge in jedem Falle für die Absättigung des vom Erreger gebildeten Lycomarasmins aus? Herr Kollege A. Pirson in Marburg hat uns hierüber beraten.

Normal ernährte Blätter von *Spinacia oleracea* enthalten nach Liebich (1941) 0,0111% Eisen, bezogen auf die Trockensubstanz. Nach Neish (1939) stellen sich die entsprechenden Werte bei *Trifolium pratense* auf 0,025%, bei *Onoclea sensibilis* auf 0,043% und bei *Arctium minus* auf 0,070%. Bei sämtlichen vier Landpflanzen bewegt sich also der Eisengehalt innerhalb derselben Dimension; wir begehen deshalb keinen allzu großen Fehler, wenn wir vermuten, daß sich die Ergebnisse von Liebich und Neish in großen Zügen auch auf die Tomatenpflanzen übertragen lassen.

Den Trockensubstanzgehalt, bezogen auf das Frischgewicht, haben wir bei handelsüblichem Spinat auf 9% bestimmt; also sind in 1 kg Lebendgewicht rund 10 mg Eisen vorhanden. Von diesen 10 mg befinden sich im Falle des Spinates rund 82% (also rund 8,2 mg, bezogen auf das Kilogramm Frischgewicht) in den Chloroplasten, rund 5% (also rund 0,5 mg, bezogen auf das Kilogramm Frischgewicht) im Zytoplasma, und rund 13% (also rund 1,3 mg, bezogen auf das Kilogramm Frischgewicht) im Zellsaft gelöst.

Vom Chloroplasteneisen sind rund 60% konstitutionell gebunden und den Chloroplasten stabil eingefügt. Von den restlichen 40%, also rund 3,3 mg, bezogen auf das Kilogramm Frischgewicht, sind rund $\frac{1}{5}$ mit Wasser eluierbar und wahrscheinlich zweiwertig, und rund $\frac{4}{5}$ sind wahrscheinlich locker an phosphorfreie Eiweißkörper gebunden und wahrscheinlich dreiwertig. Da Assimilationsgifte das an Eiweiß adsorbierte Chloroplasteneisen freilegen und wahrscheinlich in die ionisierte Form überführen, so dürfen wir eine ähnliche Wirkung auch beim Lycomarasmin vermuten. Wir dürfen deshalb willkürlich annehmen, daß rund $\frac{3}{4}$ des nicht konstitutionell eingefügten Chloroplasteneisens den Chloroplasten entzogen und durch das Lycomarasmin abgebunden werden kann; dies sind rund 2,5 mg Eisen, bezogen auf das Kilogramm Lebendgewicht.

Beim zytoplasmatisch gebundenen Eisen (rund 5%, bezogen auf die Gesamteisenmenge), und beim wasserlöslichen Eisen (rund

13 %, bezogen auf die Gesamteisenmenge) dürfen wir wohl auch wieder als Arbeitshypothese annehmen, daß rund $\frac{3}{4}$ für eine Umsetzung mit dem eindringenden Lycomarasmin zur Verfügung stehen oder innert nützlicher Frist freigemacht werden können; dies sind rund 1,4 mg Eisen, bezogen auf das Kilogramm Lebendgewicht. Somit würden im Falle des Spinates, zusammen mit dem Chloroplasteneisen, rund 3,9 mg reagierfähiges Eisen, bezogen auf das Kilogramm Lebendgewicht, zur Verfügung stehen.

Selbstverständlich ist die Schätzung vollkommen roh; wir wissen ja nichts über die Form (ob kolloid oder ionisiert) und über die Wertigkeit und die Reaktionsbereitschaft dieses Eisens, und wissen auch nicht, wieweit sich die Verhältnisse bei den Tomaten mit denjenigen des Spinates decken; aber die Schätzung gibt uns doch eine Vorstellung über die in Frage kommende Größenordnung.

Um 10 mg Lycomarasmin (das ist die dosis minima im Rahmen des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes) äquimolar abzusättigen, braucht es 2,01 mg Fe. Nach unserer vorsichtigen Schätzung steht in der Pflanze rund doppelt soviel Eisen zur Verfügung. Es ist also auch vom Standpunkte des verfügbaren Eisens her durchaus möglich, daß das Lycomarasmin im Innern des Wirtes normalerweise nicht als reines Lycomarasmin, sondern in Gestalt des zehnmal giftigeren Lycomarasmin-Eisen-Komplexes wirkt.

Diese Annahme, daß ein Gift im Innern des Wirtes spontan eine neue, stärker wirkende Verbindung eingeht, ist in der Biologie nicht neu; so liegt die tödliche Grenzdosis von Colchicin für Frösche bei der Raum- bzw. Körpertemperatur von 20°C bei rund 1300—1500 mg je Kilogramm Lebendgewicht, bei der Raum- bzw. Körpertemperatur von 30°C jedoch bei rund 3 mg (z. B. Füchner und Breipohl 1933). Das Colchicin ist somit bei der Bluttemperatur von 30°C rund 400—500 mal giftiger als bei der Bluttemperatur von 20°C, und zwar offenbar deshalb, weil es an sich nahezu ungiftig ist, aber im Körper bei erhöhter Temperatur zu Oxydicolchicin oxydiert wird und erst dadurch seine charakteristische Giftigkeit erlangt. Wir stellen uns also vor, daß die Bildung des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes im Innern der Tomatenpflanzen einen gewissen Parallelfall zum Colchicinproblem bei den Kalt- und den Warmblütlern darstellt.

Diese Möglichkeit, daß ein pflanzliches Welketoxin im Innern der Wirtspflanzen durch Eingehen einer neuen Verbindung eine erhebliche Toxizitätssteigerung erfahren kann, scheint uns im Zusammenhang mit dem gesamten Welkeproblem wichtig zu sein. Daß ein Pilz mittels seiner giftigen Stoffwechselprodukte eine Tomatenpflanze zu vergiften mag, ist nicht weiter erstaunlich; schwieriger wird es, sich den Vorgang bei einer Bananenstaude oder einem Baumwollstrauch oder gar bei einer Ulme zu vergegenwärtigen. Wir kennen die Welketoxine der *Ophiostoma ulmi* noch nicht; aber wir haben auf Grund kurisorischer Beobachtungen keine Veranlassung zu vermuten, daß sie wesentlich giftiger seien als das Toxin der infektiösen Tomatenwelke.

Nehmen wir den Schwellenwert zu 100 mg je Kilogramm Lebendgewicht und das Gewicht einer großen Ulme zu 4000 kg an, so liegt die benötigte Toxinmenge in der Dimension von 10^2 g. Das ist eine Toxinproduktion, die man der *Ophiostoma ulmi* nicht wohl zumuten darf. Man wird also auch hier in Erwägung ziehen müssen, daß die Toxizität des Welkegiftes vielleicht durch Synergismen mit andern Stoffwechselprodukten des Erregers oder durch Eingehen einer neuen Verbindung mit Substanzen des Wirtes (analog dem Lycomarasmin-Eisen-Komplex) um eine oder mehrere Zehnerpotenzen gesteigert werden kann.

5. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Krankheitsanfälligkeit und der Welkegiftempfindlichkeit der verschiedenen Tomatensorten?

Nach der Terminologie, die S. 263 besprochen wurde, setzt sich die Krankheitswiderstandsfähigkeit aus der Infektionswiderstandsfähigkeit, der Generalisationswiderstandsfähigkeit und der Erkrankungswiderstandsfähigkeit zusammen. Im Falle eines toxigenen Parasiten wie dem *Fusarium lycopersici* deckt sich wahrscheinlich die Erkrankungswiderstandsfähigkeit einer Tomatensorte zur Hauptsache mit ihrer Toxinresistenz. Wir fragen uns deshalb: Besteht bei den verschiedenen Tomatensorten ein Zusammenhang zwischen der Krankheitsanfälligkeit und der Welkegiftempfindlichkeit?

Zur Untersuchung gelangten fünf Tomatensorten, die uns von Dr. S. P. Doolittle von der Plant industry station in Beltsville Md. zur Verfügung gestellt wurden und die eine sehr unterschiedliche Anfälligkeit für die Tomatenwelke besitzen:

- | | |
|---|----------------------|
| 1. Bonny Best | stark anfällig |
| 2. Pan America | intermediär anfällig |
| 3. Marglobe | |
| 4. Rutgers | |
| 5. Red Currant (<i>Lycopersicum pimpinellifolium</i>) | widerstandsfähig. |

Die Pflanzen wurden im Quarzsand mit 1x Nährlösung herangezogen. Für die Versuche wurden rund 20 g schwere Sprosse verwendet, unter denselben Bedingungen wie im vorangehenden Kapitel. Jeder Sproß nahm die dort bestimmte dosis minima in der Konzentration von $10^{-2,5}$ Lycomarasmin auf, nämlich 150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht, und wurde dann in Wasser zurückgestellt.

Ergebnis nach zwei Tagen: Pan America, Rutgers und Red Currant zeigen ein leichtes Vergilben der untersten Blätter; die Blätter von Pan America und Rutgers zeigen überdies in den Interkostalfeldern zahlreiche kleine bräunliche Flecken; die Blätter von Red Currant haben ausgesprochen welke Blattspitzen und Blattränder. Bonny Best und Marglobe erscheinen normal.

Ergebnis nach vier Tagen: Bei sämtlichen Pflanzen sind sämtliche Blätter bis zu den jüngsten, gipfelnahen Blättern hinauf welk und verfleckt, also abgestorben; nur die Vegetationsspitzen scheinen noch intakt zu sein.

Wir dürfen aus diesem Versuch schließen, daß bei sämtlichen fünf Sorten (im Rahmen des Methodenfehlers) kein quantitativer Unterschied in der Toxinempfindlichkeit besteht. Sogar bei der befallsfreien Red Currant liegt der Schwellenwert ungefähr gleich hoch wie bei den übrigen vier Tomatensorten. Die fünf geprüften, verschieden krankheits-anfälligen Tomatensorten sind also gleich toxinempfindlich. Ihre unterschiedliche Krankheitsanfälligkeit beruht somit nicht auf einer unterschiedlichen Toxinresistenz: Es besteht offenbar bei den Tomaten keine sortenspezifische Welkegiftempfindlichkeit.

Dieses Ergebnis ist überraschend. In einer früheren Arbeit (Gäumann und Jaag 1949) konnten wir zeigen, daß es beim *Fusarium lycopersici* in bezug auf das Wirtsspektrum eine doppelte Spezifität gibt: es gibt nebeneinander und unabhängig voneinander eine Spezifität des Erregers und eine Spezifität seines Toxins.

Der Erreger, *Fusarium lycopersici*, vermag z. B. *Pelargonium zonale* und *Vitis vinifera* nicht zu besiedeln. Diese beiden Arten liegen somit außerhalb seines Wirtsspektrums.

Sein Toxin, das Lycomarasmin, wirkt dagegen auch giftig für *Pelargonium zonale* und *Vitis vinifera*, und zwar sind diese beiden Nichtwirte (des Erregers) zum Teil noch empfindlicher für sein Toxin als seine spezifischen Wirte. Und überdies besteht innerhalb der botanischen Art *Pelargonium zonale* eine ausgesprochene sortenspezifische Welkegiftempfindlichkeit (l. c., Tabelle 3): Die Sorte Meteor ist äußerst giftempfindlich, die Sorte Lachskönig dagegen praktisch gesprochen toxinunempfindlich.

Aus Analogie zu dieser differenzierten Giftempfindlichkeit eines Nichtwirtes des *Fusarium lycopersici* hätte man erwarten können, daß eine ähnliche Empfindlichkeitsabstufung auch innerhalb der verschiedenen Tomatensorten besteht. Dies ist nicht der Fall. Die unterschiedliche Krankheitsanfälligkeit der verschiedenen Tomatensorten scheint also zur Hauptsache auf einer unterschiedlichen Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Sorten gegen die Generalisation des Erregers zu beruhen. Dieses Ergebnis würde mit den Feststellungen von Bohn und Tucker (1940) übereinstimmen, wonach die unterschiedliche Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Tomatensorten gegen die infektiöse Tomatenwelke nur auf einem Gen beruht.

Auf Grund dieser Feststellung, daß die krankheitsanfälligen und die krankheitswiderstandsfähigen Tomatensorten dieselbe Empfindlichkeit gegen das Welkegift besitzen und daß die unterschiedliche Krankheitswiderstandsfähigkeit vor allem auf einer unterschiedlichen Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Sorten gegen die Generalisation des Erregers beruhen muß, lassen sich nun auch die interessanten Pflanzversuche von May (1930) und von Heinze und Andrus (1945) deuten.

Heinze und Andrus propften in großer Zahl Reiser der stark anfälligen Sorte Bonny Best auf Unterlagen der verhältnismäßig widerstandsfähigen Sorte Pan America, ferner Reiser der verhältnismäßig widerstandsfähigen Sorte Pan America auf Unterlagen der stark anfälligen Sorte Bonny

Best, und verglichen im Infektionsversuch das Verhalten dieser Ppropfpflanzen untereinander und mit reinen (wurzelechten) Individuen von Bonny Best und von Pan America.

Die Reiser der hochanfälligen Bonny Best, gepropft auf die verhältnismäßig widerstandsfähige Pan America, zeigten in über 90% der Fälle keine Erkrankung.

Die Reiser der verhältnismäßig widerstandsfähigen Pan America, gepropft auf die hochanfällige Bonny Best, erkrankten ungefähr ebensohäufig wie die Bonny Best-Pflanzen für sich allein.

Die Bonny Best-Reiser hatten keinen meßbaren Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit der Pan America-Unterlage, und die Pan America-Reiser teilten der Bonny Best-Unterlage ihre Abwehrkraft nicht mit.

Wir stellen uns den Sachverhalt folgendermaßen vor. Beide Sorten sind im wesentlichen gleich infektionsanfällig; denn wir konnten bei beiden Sorten zahlreiche infizierte, verfärbte Wurzelpartien beobachten; die Infektion kommt also an sich in beiden Sorten in genügender Häufigkeit zum Haften, um eine Erkrankung sämtlicher Individuen zu gewährleisten. Verschieden ist jedoch in den beiden Sorten die Fähigkeit zur Generalisation. Die Sorte Pan America ist verhältnismäßig generalisationswiderstandsfähig; bei Pan America als Unterlage bleibt deshalb der Infekt auf den Primärherd in den jungen Wurzelgeweben beschränkt; der Pilz gelangt infolgedessen nicht zur Entwicklung und gelangt insbesondere nicht zu einer ausgiebigen Toxinbildung, und deshalb (weil das Toxin fehlt und weil der Erreger von der Unterlage abgedämmt wird) bleiben die Bonny Best-Reiser, gepropft auf Pan America, gesund.

In der generalisationsanfälligen Sorte Bonny Best kann sich dagegen der Pilz entfalten und kann hinreichend Welktoxin bilden und es in den Leitungsbahnen emporsteigen lassen. Aus der Unterlage Bonny Best gelangt deshalb das Toxin in das Ppropfreis Pan America hinauf; und da beide Tomatensorten gleich toxinempfindlich sind, so erkrankt Pan America, auf Bonny Best gepropft, ebensosch� wie Bonny Best für sich allein.

Also in Kürze: Pan America ist gegen den Erreger widerstandsfähig; dieser bildet deshalb in Pan America nur wenig Toxin, und aus diesem Grunde bleiben sowohl Pan America als Unterlage als Bonny Best als Ppropfreis gesund. Bonny Best ist dagegen für den Erreger anfällig; dieser entwickelt sich und bildet Toxin; und da Bonny Best und Pan America für das Toxin gleichermaßen empfindlich sind, so erkranken beide, wenn Bonny Best die Unterlage und Pan America das Ppropfreis bildet, gleichermaßen. Durch diese unterschiedliche Erreger widerstandsfähigkeit und Toxinempfindlichkeit von Pan America entsteht die sonderbare Situation, daß Pan America als Ppropfreis an einem Infekt erkrankt, den sie, wenn selbständig (wurzelrecht), abgewiesen hätte.

Unsere Versuche über die unterschiedliche Toxinempfindlichkeit der verschiedenen Tomatensorten liefern somit eine Bestätigung für die schönen experimentellen Befunde von Heinze und Andrus: sie erklären sich auf

Grund einer unterschiedlichen **E r r e g e r -** und einer unterschiedlichen **T o x i n -** widerstandsfähigkeit der verschiedenen Wirtssorten. Dies ist ja ein Problem, das auch der Humanmedizin zu schaffen macht: Wieweit beruht die individuelle Diphtheriewiderstandsfähigkeit auf einer Widerstandsfähigkeit des betreffenden Individuums gegen die **I n f e k t i o n** und wieweit auf einer Widerstandsfähigkeit gegen das **Diphtherie t o x i n?** Der Pflanzenpathologe hat hier das Glück, daß er ungehemmt experimentieren kann.

Anderseits zeigt das vorliegende Beispiel, daß wir in Zukunft bei Diskussionen über den Einfluß der Ppropfung auf die Krankheitswiderstandsfähigkeit des Reises mehr als bisher den Infektionsweg, ob aërogen oder chthonogen, berücksichtigen müssen.

Das Problem der rein aërogenen Infekte stellt' sich beispielsweise bei europäischen Reben auf amerikanischer Unterlage oder bei den Obstbäumen und den Kulturrosen, die ja ausnahmslos auf heterologen Unterlagen leben. Bei ihnen gelangt der Krankheitskeim aus der Luft unmittelbar auf das Ppropfreis. Die Unterlage tritt deshalb mit dem Krankheitskeim überhaupt nicht in Berührung, sondern beeinflußt nur die Reaktionslage, die Reaktionsnorm des Reises. Dies kann mittelbar oder unmittelbar geschehen. Mittelbar, indem die Unterlage über das Ausmaß und die Zusammensetzung der aus dem Erdboden aufgenommenen Nährstoffe entscheidet und dadurch die ernährungsphysiologisch bedingte Disposition des Reises verschiebt. Unmittelbar, indem die Unterlage bestimmte Stoffe, z. B. Alkaloide, bildet und sie in das Reis hinaufwandern läßt; so wird das Nikotin in den Wurzeln des Tabaks gebildet und dann durch den Transpirationsstrom im Xylem emporgetragen; ppropft man deshalb ein Tomatenreis auf eine Tabakunterlage, so wird das Tomatenreis nikotinhaltig (Schmid 1948). In Fällen, wo ein Alkaloid als Faktor der Resistenz mitwirkt, kann deshalb die Unterlage die Krankheitswiderstandsfähigkeit des Reises unmittelbar beeinflussen.

Anders liegen die Verhältnisse bei chthonogenen Infekten wie bei der infektiösen Tomatenwelke. Hier entscheidet die Unterlage nicht nur über die Reaktionsnorm des Reises, sondern überdies auch über das Zustandekommen der Infektion. Die Unterlage bildet ja hier die Infektionsschiene, längs welcher der Infekt aus dem Erdboden emporsteigen muß. Ist die Unterlage generalisationswiderstandsfähig wie die Sorte Pan America, so wird der Erreger abgesiebt und das Reis gelangt überhaupt nicht zur Betätigung seiner immunologischen Kräfte. Ist dagegen die Unterlage infektions- und generalisationsanfällig wie die Sorte Bonny Best, dann kann sich der Erreger in ihr entwickeln und kann sein Toxin bilden, und dann wird das gegen den Erreger widerstandsfähige Reis von der Unterlage her vergiftet. Bei chthonogenen Infekten kann somit eine Pflanze als Ppropfreis an einem Infekt erkranken, den sie, wenn wurzelecht, abzuwehren vermag.

6. Der Einfluß der Ernährung auf die Welkegiftempfindlichkeit der Tomatenpflanzen

Walker und Foster (1946), Stoddard und Dimond (1948) und andere haben gezeigt, daß die Krankheitsanfälligkeit der Tomatenpflanzen in einem erheblichen Ausmaß durch eine unterschiedliche Ernährung beeinflußt wird; so erkrankten bei Stoddard und Dimond bei der Ernährung 0,1x 40%, bei 1x 95% und bei 10x 5% der Versuchspflanzen. Anderseits gelangten wir im vorangehenden Kapitel zum Schluß, daß die natürliche sortenspezifische Krankheitsanfälligkeit der verschiedenen Tomatensorten nicht mit einer unterschiedlichen sortenspezifischen Welkegiftempfindlichkeit einhergeht; denn diese ist bei sämtlichen fünf untersuchten Tomatensorten gleich groß.

Wir fragen uns deshalb: Wie wirkt sich die unterschiedliche Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen aus? Sind die oben genannten Ergebnisse von Walker und Foster und von Stoddard und Dimond auf Grund einer ernährungsphysiologisch bedingten Verschiebung der Widerstandsfähigkeit gegen den Erreger zu deuten oder auf Grund einer ernährungsphysiologisch bedingten Verschiebung der Empfindlichkeit gegen sein Toxin?

Tomatenpflanzen der Sorte Bonny Best wurden in steriles Quarzsand gezüchtet mit 0,1-, 1- und 3-H-Nährlösung (Hoagland und Snyder 1933) bei 24°C. Die Pflanzen, welche 1- und 3-H-Nährlösung erhielten, sind normal im Wuchs, die 3-H-Pflanzen etwas mastiger als die 1-H. Die Pflanzen mit 0,1-H-Lösung zeigten ein kümmerliches Aussehen; nach 6 Wochen waren sie etwa 20 cm hoch (im Gegensatz zu 35—40 cm bei den beiden andern Gruppen); die meisten Blätter hatten einen gelblichen Ton, die Stengel waren stark verholzt.

In der 7. Woche wurden 25 g schwere Sprosse abgeschnitten, mit Ausnahme der 0,1-H-Pflanzen, die nur ein Gewicht von 7—8 g erreichten.

Es wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt, und zwar unter denselben Außenbedingungen, wie wir sie in § 3 für die Bestimmung der dosis minima geschildert haben:

1. Versuchsreihe. Jeder Sproß erhält die dosis minima, d. h. 150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht in der Konzentration von 10^{-3} molar.

2. Versuchsreihe. Jeder Sproß erhält die doppelte dosis minima, also 300 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht.

Ergebnisse nach drei Tagen:

- a) bei Aufnahme von je rund 150 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht
 - 0,1-H-Pflanzen: die unteren Blätter beginnen zu vergilben; die oberen zeigen scharf umrandete, schwarze Flecken.
 - 1-H-Pflanzen: zahlreiche zerstreute, unscharfe Flecken auf den Blättern.
 - 3-H-Pflanzen: wenige unscharfe, zerstreute Flecken auf den Blättern.

b) bei Aufnahme von je rund 300 mg Lycomarasmin je Kilogramm Lebendgewicht

0,1-H-Pflanzen: die unteren Blätter sind vollkommen vergilbt, die mittleren und oberen Blätter zeigen zahlreiche, scharf umrandete schwarzbraune Flecken.

1-H-Pflanzen: im wesentlichen gleich wie bei den 0,1-H-Pflanzen.

3-H-Pflanzen: Symptome gleich; doch treten sie eher etwas früher auf als bei den zwei vorangehenden Gruppen.

An Hand dieses Materials kann nicht auf einen quantitativen Welkeunterschied zwischen den verschiedenen ernährten, aber mit der gleichen Toxinmenge behandelten Pflanzen geschlossen werden. Qualitativ besteht insofern ein kleiner Unterschied, als die 0,1-H-Pflanzen in beiden Versuchen prägnanter (wenn auch nicht schwerere) Symptome aufwiesen als die 1-H- und 3-H-Pflanzen: scharfer umrandete, dunkle Flecken auf den Blattspreiten und scharf abgesetzte welke Partien an den Blattspitzen:

Im Rahmen des Methodenfehlers besitzt demnach die Ernährung keinen meßbaren Einfluß auf die Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen; die eingangs erwähnte unterschiedliche Krankheitsanfälligkeit der verschiedenen ernährten Tomatenpflanzen beruht somit auf einer unterschiedlichen Erreger-Widerstandsfähigkeit der betreffenden Individuen.

Wir betonen jedoch: im Rahmen des Methodenfehlers. Tomatenpflanzen sind nämlich für derartige Versuche kein günstiges Objekt; denn die Aufnahmezeit variiert bei ihnen individuell ziemlich stark, und sie variiert insbesondere auch mit der Ernährung: die dosis minima wurde von den 0,1-H-Pflanzen ungefähr in der Hälfte der Zeit aufgenommen wie bei den 1-H-Pflanzen. Und da die Aufnahmezeit nach den Erfahrungen von Abschn. 4 einen unmittelbaren Einfluß auf die Schwere der Erkrankung ausübt (wahrscheinlich infolge der vermuteten Bildung des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes), so ist ein restloser Vergleich der verschiedenen Versuchsgruppen leider nie möglich: gleich sind die Ernährung und die aufgenommene Toxinmenge, aber verschieden und unserem Zugriff entzogen ist die ebenso wichtige Aufnahmezeit. Man wird deshalb unsere Schlußfolgerung an einem günstigeren Objekt nachprüfen müssen.

Zusammenfassung

1. Es wird eine Methode zur biologischen Testung der Welkegifte beschrieben.
2. Bei zwei eingehend untersuchten Stämmen des *Fusarium lycopersici* besteht kein Zusammenhang zwischen der Toxigenität *in vitro* und der Pathogenität *in vivo*: der *in vivo* hochpathogene Stamm bildet *in vitro* wenig und der *in vivo* nahezu apathogene Stamm bildet *in vitro* viel Welketoxin.
3. Die dosis minima für reines Lycomarasmin liegt bei der Konzentration von $10^{-2,5}$ molar bei 150 mg je Kilogramm Lebendgewicht.

Sie nimmt mit abnehmender Konzentration ab und liegt bei der Konzentration von 10^{-4} bei 50 mg je Kilogramm Lebendgewicht.

4. Das Lycomarasmin geht wahrscheinlich im Innern der Pflanzen mit dem freien oder ablösbar Eisen einen Lycomarasmin-Eisen-Komplex ein, der rund zehnmal giftiger ist als reines Lycomarasmin. Auch sein Wirtsspektrum ist erheblich weiter als dasjenige des reinen Lycomarasmins. Das Sinken der dosis minima mit sinkender Giftkonzentration wird dadurch erklärt, daß bei geringer Giftkonzentration und entsprechend längerer Aufnahmezeit (um dieselbe Giftmenge je Kilogramm Lebendgewicht aufzunehmen) mehr Eisen im Wirte freigesetzt und in den giftigen Lycomarasmin-Eisen-Komplex eingebaut wird.
5. Es besteht bei den verschiedenen Tomatenarten keine Beziehung zwischen der Krankheitsanfälligkeit und der Welkegiftempfindlichkeit: stark krankheitsanfällige und vollkommen krankheitswiderstandsfähige Tomatensorten sind gleich welkegiftempfindlich. Ihre unterschiedliche Krankheitsanfälligkeit muß also auf einer unterschiedlichen Widerstandsfähigkeit gegen die Generalisation des Erregers beruhen. Auf Grund dieser Diskordanz zwischen der Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Tomatensorten gegen den Erreger und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen sein Toxin erklärt sich auch das Verhalten von Pflanzengespannen, daß eine Sorte als Pflanzfreis an einem Infekt erkranken kann, den sie, wenn wurzelecht, abzuwehren vermag.
6. Es konnte innerhalb des Methodenfehlers kein Einfluß der unterschiedlichen Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen festgestellt werden.

Zitierte Literatur

- Bohn, G. W. and Tucker, C. M. 1940. Studies on Fusarium wilt of the tomato. I. Immunity in *Lycopersicon pimpinellifolium* Mill. and its inheritance in hybrids (Univ. Missouri Agric. Exper. Stat. Res. Bull. 311, 82 S.).
- Clark, A. J. 1937. General pharmacology (Handbuch d. experimentellen Pharmakologie, herausgeg. v. Heubner und Schüler, Ergänzungswerk 4, 228 S., Berlin, Springer).
- Clauson-Kaas, N., Plattner, Pl. A. und Gäumann, E. 1944. Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. (Ber. Schweiz. Bot. Ges. **54**, 523—528).
- Fontaine, T. D., Irving, G. W. and Doolittle, S. P. 1947. Partial purification and properties of tomatin, an antibiotic agent from the tomato plant (Arch. Biochem. **12**, 395—404).
- Fontaine, T. D., Irving, G. W., Ma, R., Poole, J. B. and Doolittle, S. P. 1948. Isolation and partial characterization of crystalline tomatin, an antibiotic agent from the tomato plant (I. c. **18**, 467—475).
- Fontaine, T. D., Ma, R., Poole, J. B., Porter, W. L. and Naghski, J. 1947. Isolation of rutin from tomatin concentrates (Arch. Biochem. **15**, 89—93).
- Foster, R. E. 1946. The first symptom of tomato Fusarium wilt: clearing of the ultimate veinlets in the leaf (Phytopath. **36**, 691—694).
- Führer, H. und Breipohl, W. 1933. Temperatur und Giftempfindlichkeit (Arch. f. experiment. Pathol. **173**, 146—158).

- Gale, E. F. 1947. The chemical activities of bacteria. 199 S. London.
- Gämänn, E. 1946. Pflanzliche Infektionslehre. 611 S. Basel, Verlag Birkhäuser.
- Gämänn, E. 1948. Über den Mechanismus des infektiösen Welkens (Biol. Zentralbl. **67**, 22—26).
- Gämänn, E. 1949. Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen (Report Proceed. 4. internat. Congr. Microbiol. 407—408, Copenhagen 1947).
- Gämänn, E. und von Arx, A. 1947. Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte II (Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 174—183).
- Gämänn, E. und Jaag, O. 1946. Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen (Experientia **2**, 215—220).
- Gämänn, E. und Jaag, O. 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III (Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 3—34, 132—148, 227—241).
- Gämänn, E. und Jaag, O. 1949. Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken (Phytopath. Zeitschr. **15**, 1949).
- Gämänn, E., Jaag, O. und Braun, R. 1947. Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte I (Experientia **3**, 70—71).
- Gottlieb, D. 1943. The presence of a toxin in tomato wilt (Phytopath. **33**, 126—135).
- Heinze, P. H. and Andrus, C. F. 1945. Apparent localization of Fusarium wilt resistance in the Pan America tomato (Amer. Journ. Bot. **32**, 62—66).
- Hoagland, D. R. and Snyder, W. C. 1933. Nutrition of strawberry plant under controlled conditions (Proc. Amer. Soc. Sc. **30**, 288—294).
- Hodgson, R., Peterson, W. H. and Riker, A. J. 1949. The toxicity of polysaccharides and other large molecules to tomato cuttings (Phytopath. **39**, 47—62).
- Hodgson, R., Riker, A. J. and Peterson, W. H. 1947. A wilt inducing toxic substance from crown-gall bacteria (Phytopath. **37**, 301—318).
- Irving, G. W., Fontaine, T. D. und Doolittle, S. P. 1945. Lycopersicin, a fungostatic agent from the tomato plant (Science **102**, 9—11).
- Irving, G. W., Fontaine, T. D. and Doolittle, S. P. 1946. Partial antibiotic spectrum of tomatin, an antibiotic agent from the tomato plant (Journ. Bacter. **52**, 601—607).
- Liebich, H. 1941. Quantitativ-chemische Untersuchungen über das Eisen in den Chloroplasten und übrigen Zellbestandteilen von *Spinacia oleracea* (Zeitschr. f. Bot. **37**, 129—157).
- Luz, G. 1934. Über den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini* (Phytopath. Zeitschr. **7**, 585—638).
- May, C. 1930. The effect of grafting on resistance and susceptibility of tomatoes to Fusarium wilt (Phytopath. **20**, 519—521).
- Neish, A. C. 1939. Studies on chloroplasts. Their chemical composition and the distribution of certain metabolites between the chloroplasts and the remainder of the leaf (Biochem. Journ. **33**, 300—308).
- Plattner, Pl. A. und Clauson-Kaas, N. 1944. Über ein Welke erzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. (Helv. Chim. Acta **28**, 188—195).
- Plattner, Pl. A. und Clauson-Kaas, N. 1945. Über Lycomarasmin, den Welkestoff aus *Fusarium lycopersici* Sacc. (Experientia **1**, 195—196).
- Plattner, Pl. A., Clauson-Kaas, N., Boller, A. und Nager, U. 1948. Der hydrolytische Abbau des Lycomarasmins (Helv. Chim. Acta **31**, 860—869).
- Schmid, H. 1948. Über die Nikotinbildung in der Tabakpflanze (Ber. Schweiz. Bot. Ges. **58**, 5—44).
- Stoddard, E. M. and Dimond, A. E. 1948. Influence of nutritional level on the susceptibility of tomatoes to Fusarium wilt (Phytopath. **38**, 670—671).
- Walker, J. C. and Foster, R. E. 1946. Plant nutrition in relation to disease development. III. Fusarium wilt of tomatoes (Amer. Journ. Bot. **33**, 259—264).
- Wellmann, F. L. 1939. A technique for studying host resistance and pathogenicity in tomato Fusarium wilt (Phytopath. **29** 945—956).
- Zinsser, H., Enders, J. F. und Fothergill, L. D. 1941. Immunity. Principles and application in medicine und public health 5th ed. 801 S. New York.

*Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule
in Zürich*

Zur Gewinnung von Enniatinen aus dem Myzel verschiedener Fusarien

Von

Ernst Gäumann, St. Naef-Roth und L. Ettlinger

In einer kurzen Mitteilung (Gäumann, Roth u. a. 1947) orientierten wir über die Auffindung von Enniatin, eines neuen Antibiotikums aus dem Myzel von *Fusarium*-Arten mit Wirksamkeit in vitro gegen grampositive, insbesondere säurefeste Bakterien. Es zeigte sich, wie das auch bei anderen antibiotischen Stoffen, z. B. Penicillin, der Fall ist, daß nicht nur ein einziges Enniatin existiert, sondern daß bei verschiedenen *Fusarium*-Arten oder auch beim gleichen Stamm nebeneinander verschiedene, aber ähnlich gebaute Substanzen vorkommen. Wir fassen sie zur Gruppe der Enniatine zusammen und unterscheiden sie mit verschiedenen Buchstaben. Bisher konnten das zuerst beschriebene Enniatin A ($C_{24}H_{42}O_6N_2$, Smp. 122°) und Enniatin B ($C_{22}H_{38}O_6N_2$, Smp. 175°) isoliert werden, während Enniatin C noch nicht in reiner Form vorliegt. Über die Chemie der Enniatine — es handelt sich um eine neue Stoffgruppe — berichten Veröffentlichungen aus dem Organisch-chemischen Institut der E. T. H. (Plattner und Nager 1947, 1948, Plattner, Nager und Boller 1948, Nager 1948). Literaturübersichten finden sich in den genannten Publikationen.

Einige Zeit nach unserer ersten Mitteilung über Enniatin haben unabhängig von uns Cook, Cox u. a. (1947, vgl. auch Cook, Cox und Farmer 1948) Untersuchungen über die gleiche Stoffgruppe veröffentlicht. Ihr Lateritiin I aus *Fusarium lateritium* Nees ist mit unserem Enniatin A identisch. Zur Beurteilung der verwandten Stoffe Lateritiin II und Fructigenin aus der gleichen *Fusarium*-Art sowie Avenacein aus *Fus. avenaceum* (Fr.) Sacc. und Sambucinin aus *Fus. sambucinum* Fuck. sind noch weitere Untersuchungen abzuwarten.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit biologischen Versuchen über die Gewinnung von Enniatinen und über ihre Wirkung in vitro und in vivo.

1. Die Gewinnung von Enniatin A aus dem Myzel von *Fus. oxy-sporum* Schlecht.

a) Der Pilz

Die Ausgangskultur des für die Produktion von Enniatin A hauptsächlich verwendeten Stammes E. T. H. 1523/8 wurde uns von Herrn Dr. H. Zogg, Eidgen. Landwirtschaftl. Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon, zur Verfügung ge-

stellt. Es handelt sich um eine Isolierung aus der Halmbasis fußkranken Roggens in Remüs, Unterengadin.

Da der Pilz während 3 Monaten Kultur auf keinem der verwendeten Nährböden Sporodochien bildete, konnten wir ihn nach Wollenweber und Reinking (1935) nirgends einreihen und bezeichneten ihn daher anfänglich als *Fus. orthoceras* (App. et Wr.) var. *enniatinum* n. v. Erst später fand Herr A. von Arx auf alten Malzagarkulturen, die während 9 Monaten in der Kühle (+3°C) aufbewahrt worden waren, typische Sporodochien. Damit ließ sich der Pilz eindeutig als *Fus. oxysporum* Schlecht. identifizieren, und die Aufstellung einer neuen Varietät wurde hinfällig.

b) Testmethodik

Enniatin besitzt nur sehr geringe Wasserlöslichkeit; daher röhrt es wohl, daß beim Wachstum des Pilzes in Nährlösung das Antibiotikum im Myzel angereichert und nur spurenweise in das Medium ausgeschieden wird. Berechnet auf gleiche Menge Nährlösung enthält das Myzel 50–100 mal mehr Enniatin als das Kulturfiltrat. Bei den unten beschriebenen Versuchen über optimale Kulturbedingungen wurde daher nur auf möglichst hohe Myzelaktivität geachtet und das Kulturfiltrat wurde bei der Aufarbeitung verworfen.

Zur Bestimmung der Myzelaktivität verfährt man folgendermaßen: Das Myzel wird von der Nährösung abfiltriert, im Mörser mit Na_2SO_4 verrieben, mit Äther überschüttet und 24 Std. zu 3°C gestellt. Der Verdampfungsrückstand des Ätherextraktes (bei Labortemperatur im Vakuum) wird in Aceton aufgenommen und mit sterilem destilliertem Wasser verdünnt. Die 10% Aceton enthaltende Lösung wird mit Paratuberkelbazillus E. T. H. 2001 (Isolierung aus Ratte, erhalten von Prof. Dr. P. Hauduroy, Lausanne) in Verdünnungsreihen getestet, indem von 1 cc der Lösung geometrisch steigende Verdünnungen im Verhältnis 1/5, 1/10, 1/20 usw. in Nährbouillon (Difco nutrient broth) hergestellt werden. Jedes Bouillonröhrchen wird mit einem Tropfen einer 40 stündigen Fleischbouillonkultur des Bakteriums beimpft (Inoculum etwa $5 \cdot 10^4$ Keime). Nach 40 stündiger Bebrütung bei 37°C wird die höchste Verdünnung mit totaler Wachstumshemmung festgestellt. Die Aktivität wird in Verdünnungseinheiten (E 01) ausgedrückt, d. h. in derjenigen Stoffmenge, die in 1 cc gelöst gerade noch Totalhemmung bei Bakterium E. T. H. 2001 bewirkt. Die durchschnittliche Streuung beträgt bei gleichzeitig ausgeführten Tests $\pm 20\%$, bei an verschiedenen Tagen ausgeführten Tests $\pm 30\%$. Um diese täglichen Schwankungen, die in der Hauptsache von der Beschaffenheit des Impfmaterials und von eventuellen Temperaturschwankungen im Brutschrank abhängen, auszugleichen, wird mit jeder Testgruppe ein Standardpräparat des Stoffes von bekannter Aktivität mitgetestet; alle Ablesungen werden auf diesen bekannten Wert bezogen und umgerechnet.

Der Einfluß der Keimzahl bei der Impfung der Verdünnungsreihen wurde in folgender Versuchsreihe bestimmt: zur Beimpfung von fünf parallelen Verdünnungsreihen einer Lösung von 0,05 mg Enniatin A wurde Impfmaterial in fünf verschiedenen Konzentrationen verwendet. Die Keimzahl des Inoculums wurde durch Auszählen der Kulturen auf Nähragarplatten.

bestimmt. Nach dreitägiger Bebrütung bei 37°C stellten wir die letzte noch gehemmte Teststufe fest und berechneten daraus die entsprechenden Enniatin-einheiten (1 mg Enniatin = 1000 E 01).

Die Werte der Tabelle 1 zeigen, daß keine Verschiebung der Testresultate eintritt, ob die Bouillon vor der Bebrütung 50 000 oder nur 5 000 Keime je Kubikzentimeter enthält. Die nicht konstantzuhaltende Tropfengröße bei der Beimpfung der Tests kann also für die Testungenauigkeit nicht verantwortlich gemacht werden, und größere Unterschiede in der Dichte der Bakterieneinsaat werden durch die Umrechnung mit dem in gleicher Weise beimpften Standard ausgeschaltet. Erst bei Verwendung von stärker verdünntem Inoculum ergibt sich eine wesentliche Verschiebung der Testresultate.

Ferner untersuchten wir die Brauchbarkeit der Platten test m e t h o d e für die Konzentrationsbestimmung von Enniatin-A-Lösungen in Aceton. Auf mit *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P besäte Nähragarplatten wurden Filterpapierscheibchen von 13 mm Durchmesser aufgelegt, die wir in der zu testenden Lösung tränkten. Die nach 14 stündiger Bebrütung bei 37°C entstandenen Hemmungszonen wurden ausgemessen und aus 40 Einzelbestimmungen die Konzentrationswirkungskurve ermittelt. Dabei fanden wir bei semilogarithmischer Auftragung keine Gerade, sondern eine stetig abflachende gekrümmte Kurve (Tabelle 2).

T a b e l l e 2
Die Empfindlichkeit des Plattenfiltertests mit *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P für Enniatin A

Einheiten der Testlösung (E 26/cc)	5000	2500	1250
Hemmungszonendurchmesser (mm)	18,5	17,6	15,4

Da die Empfindlichkeit dieser Testmethode sehr gering ist, wurde für die Austestung der Myzelextrakte und für die Kontrolltests der chemischen Extraktionen nur die Verdünnungsreihenmethode verwendet.

Die Myzelaktivität wird in Verdünnungseinheiten E 01 des Bakteriums E. T. H. 2001 je Kubikzentimeter Nährlösung ausgedrückt, d. h. der Aktivitätsgehalt wird auf die ursprünglich verwendete Ausgangsnährlösung bezogen.

c) Versuche in Oberflächenkultur

Zur Gewinnung von aktivem Myzel eignen sich verschiedene flüssige Nährmedien wie Raulin-Thom, Czapek-Dox, mod. Cook und Tulloch, (an Stelle von Erbsenextrakt Kleieextrakt, 100 g Kleie auf 1 l aqua dest.); die besten Resultate wurden mit Richardson'scher Nährlösung, modifiziert nach Luz erhalten (Zusammensetzung: Glukose 50 g, Ammonnitrat 10 g, Monokaliumphosphat 5 g, Magnesiumsulfat 2,5 g, Eisenchlorid 0,02 g, dest. Wasser 1000 cc).

T a b e l l e 1
Der Einfluß der Keimzahl bei der Beimpfung der Verdünnungsreihentests

Inoculum (Keime je cc Testlösung)	Enniatin E 01
50 000	60
5 000	60
500	180
50	310
5	120 000

Dabei kann Glukose durch gleiche Gewichtsmengen des billigeren Rohrzuckers (Saccharose) ersetzt werden (Tabelle 3).

Wir kultivierten daher auf Richardscher Nährlösung und variierten deren Kohlehydrat- und Stickstoffgehalt. Mit zunehmendem Zuckergehalt zeigt sich keine wesentliche Steigerung der Aktivität (Tabelle 4). Ebenso haben höhere Stickstoffgaben in der Nährlösung eher eine Verringerung der Enniatinproduktion zur Folge (Tabelle 5). Der Zusatz von Spurenelementen (Cu, Mn, Zn) und Wuchsstoffen (Watteextrakt, Corn-Steep-Liquor) zur Richardschen Nährlösung ergab keine Erhöhung der Ausbeute.

Tabelle 3

Die Aktivität im Kulturfiltrat und im Myzelextrakt bei Züchtung auf verschiedenen Nährlösungen

Nährlösung	Aktivität im	
	Kulturfiltrat E 01/cc	Myzelextrakt E 01/cc
Richard-Luz	40	1100
Raulin-Thom	40	215
Cook und Tulloch	20	275
Czapek-Dox	28	580

Tabelle 4

Der Einfluß der Variation der Kohlehydratquelle auf die Myzelaktivität (27° C, Beimpfung 10⁶ Keime je Kulturgefäß, Ernte nach 18 Tagen)

% Rohrzucker	Aktivität im Myzelextrakt E 01/cc
1	500
2	660
3	710
4	1000
5 normal	1010
6	1020
7	1110
8	1100
9	1100
10	810

Tabelle 5

Der Einfluß der Variation der Stickstoffquelle auf die Myzelaktivität (27° C, Beimpfung 10⁶ Keime je Kulturgefäß, Ernte nach 18 Tagen)

NH ₄ NO ₃ g/Liter	Aktivität im Myzelextrakt E 01/cc
5	840
10 normal	1250
15	1320
20	1250
25	750
30	750
35	780
40	750

Tabelle 6

Der Einfluß der Schichthöhe der Nährlösung auf die Aktivität des Myzels (27–28° C, Beimpfung etwa 2 · 10⁴ Keime je Kulturgefäß, Ernte nach 18 Tagen)

Schichthöhe im Kulturgefäß mm	Aktivität im Myzelextrakt E 01/cc	Trockengewicht des Myzels (g) 4 Std. bei 103° C
12	390	0,346
15	720	0,515
18	850	0,698
21	850	0,719
24	900	1,033

Als Kulturgefäße dienten in unseren Versuchen 500-cc-Erlenmeyerkolben (Murano) mit 100 cc Nährlösung. Eine Schichthöhe von etwa 18 mm erwies sich als genügend für optimale Myzelaktivität (Tabelle 6).

Beobachtet man die Enniatinproduktion in Abhängigkeit von der Inkubationszeit (Tabelle 8), so folgt auf einen langsamem Anstieg nach

dem Überschreiten der günstigsten Erntezeit (18—21 Tage) wiederum ein Abfallen bis auf die Hälfte (ein Drittel) des optimalen Wertes. Die Aktivität des Myzelextraktes ist ferner von der Züchtungstemperatur abhängig (Tabelle 8). Die optimale Züchtungstemperatur für die Enniatinproduktion liegt höher ($30-27^{\circ}\text{C}$) als die für das Myzelwachstum optimale Temperatur ($21-24^{\circ}\text{C}$), was aus den Myzeltrockengewichten von Tabelle 7 hervorgeht. Bei den Inkubationstemperaturen 33 und 24°C werden erheblich geringere Enniatinmengen gebildet.

Tabelle 7
Myzeltrockengewicht in Abhängigkeit von Wachstumstemperatur
und Inkubationszeit (Mittel aus je 4 Bestimmungen)

Inkubationszeit Tage	Trockengewicht des Myzels (4 Std. bei 103°C) bei den Temperaturen			
	30	27	24	21°C
10	0,528	0,455	0,428	0,492
12	0,611	1,051	0,595	0,639
14	0,707	1,034	0,609	0,821
16	0,692	0,985	0,865	1,001
18	0,797	0,990	1,008	1,044
20	0,653	0,874	1,224	1,027
22	0,640	0,726	1,130	0,985
26	0,544	0,691	1,099	1,176
29	0,498	0,720	1,073	1,208

Tabelle 8
Zeit-Temperaturdiagramm der Myzelaktivität (Beimpfung etwa
 10^5 Keime je Kulturgefäß)

Inkubationszeit Tage	Aktivität im Myzelextrakt (E 01/cc) bei den Temperaturen			
	33	30	27	24°C
12	360	900	900	225
13	350	1060	1060	—
14	360	1060	1060	340
15	380	1120	900	340
16	400	1080	1080	450
18	480	1160	1060	450
19	450	1580	1140	420
20	470	1550	1160	—
21	400	1350	1060	370
22	460	900	820	320
23	250	690	630	330
28	280	580	450	305

Ferner zeigte es sich in unseren Versuchen, daß bei der Beimpfung der Kulturgefäße die Dichte der verwendeten Sporensuspension eine Rolle spielt. Die Suspension wird durch Aufschwemmung einer 14 tägigen Kultur des Pilzes auf Reis (10 g Reis mit 30 cc Brunnenwasser) in destilliertem Wasser hergestellt. Bei starker Beimpfung der Nährlösung (10^6 keimfähige Sporen je Kulturgefäß) enthält das Myzel nach 15 Tagen bereits 1540 E 01/cc, während bei 10 mal geringerer Beimpfung erst nach 21 Tagen Werte von etwa 1500 E 01/cc gefunden wurden (Tabelle 9).

Tabelle 9
Der Einfluß der Konzentration des Impfmaterials auf die Kulturzeit (27°C)

Impfdichte (Anzahl keimfähiger Sporen je Kolben)	Aktivität im Myzelextrakt (E 01/cc) nach einer Kulturdauer von		
	15	18	21 Tagen
1 000 000	1540	1630	980
100 000	650	1200	1480
10 000	360	670	1000
1 000	410	560	890

Noch geringere Beimpfung verschiebt die optimale Ausbeute noch stärker, nach 21 Tagen können hier nur 1000 E 01/cc gefunden werden.

Nach allen diesen Versuchen erfolgt eine optimale Enniatin-A-Produktion durch *F. oxysporum* Schlecht. E.T.H. 1523/8 bei Züchtung auf Richard-scher Nährösung, modifiziert nach Luz, bei einer Temperatur von $30-27^{\circ}\text{C}$, bei einer Kulturzeit von 15—18 Tagen und bei einer Beimpfung der Kulturgefäße mit etwa 10^6 keimfähigen Sporen je 100 cc Nährösung. Größere Ansätze für die chemische Aufarbeitung wurden in 2-l-Fernbachkolben und 2-l-Glaxokolben mit je 500 cc Nährösung und einer Schichthöhe von 18—20 mm kultiviert. Dabei betrug die Ausbeute in mittleren Ernten 900 mg reines Enniatin A je Liter angesetzte Nährösung.

d) Versuche in Tauchkultur

Enniatin A wird nicht nur in der dicken Myzelschicht von Oberflächenkulturen des *Fusariums* 1523/8 gebildet, sondern auch im submers wachsenden Myzel von Tauchkulturen, in welchen der Pilz durch mechanische Bewegung des Kulturgefäßes an der Bildung einer Oberflächenhaut gehindert wird. Mit Hilfe dieser Kulturmethode vermochten wir die Inkubationszeit wesentlich zu verkürzen, indem in Schüttelkulturen nach 4—5 Tagen ähnliche Myzelaktivitäten gewonnen werden können wie in 18—20tägigen Oberflächenkulturen (Tabelle 10).

Tabelle 10
Der Aktivitätsverlauf in Tauchkulturen (27°C , Impfdichte 40000 Keime je Kolben)

Kulturzeit Std.	Aktivität im Kulturfiltrat E 01/cc	Aktivität im Myzelextrakt E 01/cc	Trockengewicht des Myzels (4 Std. bei 103°C) g
55	..	47	0,601
70	115	295	0,789
94	25	940	1,286
118	25	1150	1,282
127	20	1220	1,556
144	20	930	1,369
168	20	900	1,359
220	20	635	1,269
336	20	600	0,594

Vom sechsten Tag an nehmen Aktivität und Myzelgewicht wieder ab, und die Kulturen werden schleimig. Die Dichte des Inoculum (ebenfalls eine Suspension von Reiskulturen) hat bei dieser Produktionsmethode den-

selben Einfluß wie in Oberflächenkulturen, d. h. das Aktivitätsmaximum wird bei stärkerer Beimpfung früher erreicht (Tabelle 11).

Tabelle 11
Der Einfluß der Konzentration des Impfmaterials auf die Kulturzeit (27°C)

Impfdichte (Anzahl keimfähiger Sporen je Kolben)	Aktivität im Myzelextrakt (E 01/cc) nach einer Kulturdauer von			
	55	70	94	118 Std.
400 000	250	1100	980	595
40 000	47	295	970	1220
4 000	0	90	280	640

2. Versuche in vitro

a) Wirkung von Enniatin A auf Bakterien

Das antibakterielle Spektrum von Enniatin A zeigt, daß Mykobakterien bei Konzentrationen von 1 : 100 000 bis 1 : 1 000 000 gehemmt werden. Die Empfindlichkeit von Staphylokokken und anderen grampositiven Bakterien ist geringer, während das Wachstum von gramnegativen Bakterien auch durch hohe Enniatinkonzentrationen nicht beeinträchtigt wird.

Tabelle 12
Antibakterielles Spektrum von Enniatin A

	E je g
Paratuberkelbazillus E.T.H. 2001	1 000 000
<i>Mycobacterium phlei</i> ATCC 354	310 000
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (human) ¹⁾	100 000—500 000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P	160 000
<i>Staphylococcus citreus</i> E.T.H. 356	400 000
<i>Staphylococcus pyogenes albus</i> E.T.H. 306	100 000
<i>Bacillus cereus</i> E.T.H. 322	300 000
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i> E.T.H. 346	50 000
<i>Bacillus megatherium</i> E.T.H. 2040	100 000
<i>Bacillus subtilis</i> E.T.H. 2016	320 000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E.T.H. 305	< 1 000
<i>Serratia marcescens</i> E.T.H. 2007	80 000
<i>Salmonella pseudoasiatica</i> E.T.H. 2003	< 1 000
<i>Escherichia coli</i> E.T.H. 2018	< 1 000

Folgender Tastversuch läßt eine bakterizide Wirkung des Antibiotikums auf Paratuberkelbazillus E.T.H. 2001 erkennen: Eine Lösung von 0,01 mg Enniatin A in 10 cc Nährbouillon wurde mit etwa 50 000 Keimen aus einer Bouillonkultur des Bakteriums 2001 beimpft und bei 37°C inkubiert. Nach verschiedener Einwirkungsdauer stellten wir die Anzahl der noch lebensfähigen Keime in der Bouillon fest. Als Kontrolle diente eine normal beimpfte Bouillonkultur. Nach 24 Stunden zeigte die enniatinhaltige Bouillon keine lebensfähigen Keime mehr, währenddem in der Kontrolle sich die Bakterienzahl sehr stark erhöhte (Tabelle 13).

¹⁾ Ausgeführt in den Forschungslaboratorien der Ciba AG., Basel (Prof. Dr. R. Meier).

Tabelle 13
Einfluß von Enniatin A auf die Keimzahl einer Bouillonkultur
von Paratuberkelbazillus E.T.H. 2001

Bebrütung bei 37° C Std.	Keimzahl je cc	
	Kontrolle	Enniatinlösung
0	5 · 10 ⁴	4,8 · 10 ⁴
1	5 · 10 ⁴	3 · 10 ⁴
2	5 · 10 ⁴	3 · 10 ⁴
4	30 · 10 ⁴	2 · 10 ⁴
8	400 · 10 ⁴	0,8 · 10 ⁴
24	1600 · 10 ⁴	0 · 10 ⁴

Die antibakterielle Wirkung von Enniatin A wird durch Serum beeinträchtigt. Zwar läßt sich durch Zugabe von 1% Serum je Teströhrchen mit Paratuberkelbazillus E.T.H. 2001 keine Desaktivierung feststellen, doch sinkt die Aktivität in Bouillon mit 5% Serum um 50%. 10% Serum enthaltende Nährbouillon ergibt im Test mit *Staph. aureus* eine Desaktivierung von 75%. (Dieser Test kann mit Bakterium 2001 nicht ausgeführt werden, da ein so hoher Serumgehalt den Organismus am Wachstum zu hindern vermag.)

b) Wirkung von Enniatin A auf Pilze

In einem ersten Versuch prüften wir Enniatin A auf seine fungizide bzw. fungistatische Wirkung. 19 Pilze wurden auf enniatinhaltigem Malzagar aufgeimpft und bei 27° C inkubiert. Nach 14 Tagen wurde das Wachstum mit demjenigen der Kontrolltuben verglichen. Die Resultate der Tabelle 14 zeigen eine wachstumshemmende Wirkung von Enniatin A auf 12 Pilze der verschiedensten Gattungen, wobei die wirksamen Konzentrationen bei 7 Pilzen zwischen 1:100 000 und 1:200 000 liegen. Die Versuche über die Wirkung auf pflanzenpathogene Pilze und auf Dermatophyten werden fortgesetzt.

3. Versuche in vivo

Die Frage nach der Toxizität von Enniatin A wurde von Herrn A. Heierle (bakteriologisches Laboratorium der chirurgischen Abteilung des Kantonsspitals Zürich, Prof. Dr. A. Brunner) im Tierversuch an Meerschweinchen und Kaninchen geprüft. Die Ergebnisse waren ungünstig. Subkutane Injektionen einer Lösung von Enniatin in Olivenöl mit einer maximalen Dosis von dreimal 50 mg (mit Intervallen von je 48 Std.) zeigten keinerlei toxische Wirkung auf die Versuchstiere. In Blut und Harn konnte kein Enniatin festgestellt werden. Ebenso ergab die Einzelextraktion der inneren Organe auf Enniatin negative Resultate. Bei der Sektion der Injektionsstelle wurde die Bildung eines weißen Knotens um das Öldepot gefunden, aus welchem praktisch die gesamte Stoffmenge wieder extrahiert werden konnte. Parallel dazu wurden Toxizitätsversuche in den Forschungslaboratorien der Ciba AG., Basel (Prof. Dr. R. Meier) durchgeführt. Dabei zeigte eine Emulsion von Enniatin bei peroraler und subkutaner Gabe von 1,0 und 0,5 g/kg an der Maus bei 6 maliger Applikation im Verlaufe von 6 Tagen keinerlei toxische Wirkungen.

Tabelle 14

Wirkung von Enniatin A in Konzentrationen von 1:2000 bis 1:200000 auf das Wachstum verschiedener Pilze (* aus dem Centraal-Bureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holland)

E.T.H. Nr.	Pilzstamm	Enniatin-Konz. mg/cc				
		0,5	0,05	0,02	0,01	0,005
4233*	<i>Calonectria graminicola</i> (Berk. et Br.) . . .	-	-	-	-	++
4694	<i>Clasterosporium carpophilum</i> (Lév.) Aderh. . .	-	-	-	(+)	++
4979*	<i>Helminthosporium avenae</i> Eidam . . .	++	++	++	++	++
5016*	<i>Botrytis allii</i> Munn.	++	++	++	++	++
1222*	<i>Alternaria allii</i> Nolla	++	++	++	++	++
1233*	<i>Alternaria brassicae</i> (Berk.) Bolle . . .	+-	+-	++	++	++
4996	<i>Armillaria mellea</i> (Vahl.) Quel.	-	-?	++
5414	<i>Fusarium lycopersici</i> Sacc.	++	++	++	++	++
4584	<i>Gloeosporium fructigenum</i> Berk.	+	+	++	++	++
4981*	<i>Helminthosporium gramineum</i> Rabh.	-	-	-	++?
1038*	<i>Conioiphora cerebella</i> (Pers.) Schroet.	-	-	-	-?
1007*	<i>Rhizoctonia crocorum</i> DC.	-	-	-	-?
1913	<i>Ophiobolus graminis</i> Sacc.	-	+	++	+++
1036*	<i>Lenzites abietina</i> (Bull.) Fr.	-	-	+	+
1037*	<i>Stereum purpureum</i> (Pers.) Fr.	+	+	++	++
1049*	<i>Merulius domesticus</i> Falok	-	-	-	-
1040*	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	++	++	++	+++	+++
1041*	<i>Polystictus versicolor</i> (L.) Fr.	-	-	+	++
1130*	<i>Endostigme inaequalis</i> (Cke.) Syd.	-	-	(+)	(+)

-- kein Wachstum

(+) Wachstum nur in die Höhe, nicht auf den Nährboden hinaus

++ sehr wenig Wachstum

+++ wenig Wachstum

++++ gutes Wachstum

+++++ sehr gutes Wachstum

Enniatin scheint also wegen seiner geringen Wasserlöslichkeit im Tierkörper nicht resorbiert zu werden; das Depot bleibt auch 4 Wochen nach der Injektion noch in vollem Umfange erhalten. Die in parallelen Versuchen mit Enniatin und Tuberkelbazillen geimpften Meerschweinchen zeigten nach kurzer Zeit eine ausgedehnte Erkrankung.

4. Produktion von Enniatinen durch andere Fusarien

Bei der systematischen Bearbeitung aller uns zur Verfügung stehenden *Fusarium*-Isolierungen fanden wir, wie schon erwähnt, eine Reihe von anderen Stämmen (Tabelle 15), die in ihren Myzelien gleiche oder ähnliche Substanzen anreichern wie *Fusarium* 1523/8. So wurden neben Enniatin A auch die Enniatine B und C isoliert und dabei festgestellt, daß im Myzel desselben Pilzes meist Gemische aller drei Stoffe vorliegen. In Tabelle 15 sind die Myzelaktivitäten, die wir im Test mit Bakterium 2001 erhielten, und die aus den Extrakten gewonnenen Stoffe aufgeführt.

Neben *F. oxysporum* Schlecht. E.T.H. 1523/8 fanden wir als Hauptproduzent von Enniatin A *F. scirpi* Lamb. et Fautr. E.T.H. 1536/9. Da aber dieser Stamm nur auf dem komplizierten Cook und Tulloch-Medium aktives Myzel bildet und zudem für Tauchkulturen nur mit schlechter Ausbeute ver-

wendet werden kann, kultivierten wir für große Ansätze ausschließlich den Stamm 1523/8. Für die Gewinnung von Enniatin B eignet sich *F. oxysporum* var. *aurantiacum* (Lk.) Wr. E.T.H. 1574 am besten.

Tabelle 15

Aktivitäten im Kulturfiltrat und im Ätherextrakt des Myzels verschiedener Fusarien gegenüber Paratuberkelbazillus E.T.H. 2001

E.T.H. Nr.	Fusarium-Stamm	Nähr-lösung	Aktivität (E 01/cc)		Antibiotikum
			Kultur-filtrat	Myzel	
1523/8	<i>oxysporum</i> Schlecht.	Richard	20	1100	Enniatin A, B
1536/9	<i>scirpi</i> Lamb. et. Fautr.	mod. Cook	40	1200	" A, B
4363/2	<i>avenaceum</i> (Fr.) Sacc. f. 1 n. c. Wr.	Czapek	20	320	" B, A
1574/9	<i>oxysporum</i> Schlecht. var. <i>aurantiacum</i> (Lk.) Wr.	mod. Cook	40	520	" B, A
1524	<i>oxysporum</i> Schlecht.	Richard	17	320	" B, C, A
4620	<i>sambucinum</i> Fuckel	Czapek	100	3000	" A, C, B
4057/4	nicht bestimmbar	Czapek	40	320	" B, A
4670	<i>orthoceras</i> App. et Wr. var. <i>longius</i> (Sherb.) Wr.	Raulin	50	1600	
4430/1	<i>graminearum</i> Schwabe	Czapek	40	330	chemisch nicht bearbeitet
4597/1	<i>sambucinum</i> Fuckel	Czapek	12	640	
5025/1	noch nicht bestimmt	Czapek	40	100	
4609/1	noch nicht bestimmt	Richard	40	580	

Von den 5 weiteren Fusarien, deren Myzelextrakte chemisch nicht bearbeitet wurden, sei das antibakterielle Spektrum der Ätherextrakte aufgeführt, das uns annehmen läßt, daß auch hier antibiotisch wirksame Verbindungen aus der Gruppe der Enniatine vorliegen (Tabelle 16).

Tabelle 16

Antibakterielles Spektrum der chemisch nicht untersuchten Myzelätherextrakte von 5 Fusarien

Testbakterium	Aktivität (E/cc) im Ätherextrakt des Myzels der Fusarien				
	<i>sambuci-num</i> Fuck.	<i>gramine-arum</i> Schw.	<i>orthoceras</i> var. <i>longius</i>	4609/1 unbest.	5025/1 unbest.
Paratuberkelbazillus E.T.H. 2001	480	120	1600	600	100
<i>Mycobacterium phlei</i> ATCC 354	100	68	..	220	..
<i>Bacillus subtilis</i> E.T.H. 2016	60	48	..	270	34
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	160	17	110	230	37
<i>Escherichia coli</i> E.T.H. 2018	0	0	..	0	0

Zusammenfassung

1. Es wird eine Methode beschrieben, um die antibiotische Aktivität der schwer wasserlöslichen, im Myzel angereicherten Enniatine in Verdünnungsreihentests zu bestimmen. Die Anzahl der zu hemmenden Keime spielt dabei innerhalb weiter Grenzen keine Rolle. Ihrer langsamem Diffusion in Agar wegen sind die Enniatine für die Plättentestmethode nicht geeignet.

2. Als Optimalbedingungen für die Gewinnung von Enniatin A aus dem Myzel von *Fusarium oxysporum* E.T.H. 1523/8 erwiesen sich: Modifizierte Richard'sche Nährösung, 27—30° C, 18—21 Tage in Oberflächen- oder 4—5 Tage in Schüttelkultur; reichliches Inoculum ist in beiden Fällen erforderlich.
3. Gegen Bakterien, insbesondere Mykobakterien, besitzt Enniatin A eine Wirkung bis 1:1000000, gegen Pilze bis 1:200000. Die Wirkung ist selektiv und bei höheren Konzentrationen bakterizid. Sie wird durch Gegenwart von Serum beeinträchtigt. Die Aktivität von Enniatin B und C steht hinter derjenigen von Enniatin A zurück.
4. Enniatin A weist keine oder höchstens sehr geringe Toxizität für Versuchstiere auf. Es wird aber, wohl wegen seiner geringen Löslichkeit, nicht resorbiert, so daß bei systemischer Applikation auch keine Aktivität *in vivo* zu erwarten ist. Ob seine antifungischen Eigenschaften Möglichkeiten für eine praktische Anwendung bieten, bleibt noch zu prüfen.

Die vorliegende Arbeit entstammt einem Zyklus, der aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes unterstützt wurde; wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unseren Dank wiederholen.

Zitierte Literatur

- Cook, A. H., Cox, S. F., Farmer, T. H. and Lacey, M. S., 1947. Production of Antibiotics by *Fusaria* (Nature **160**, 31—32).
- Cook, A. H., Cox, S. F. and Farmer, T. H., 1948. Antibiotics produced by fungi and a new phenomenon in optical resolution (Nature **162**, 61—62).
- Gäumann, E., Roth, St., Ettlinger, L., Plattner, Pl. A. und Nager, U., 1947. Enniatin, ein neues, gegen Mykobakterien wirksames Antibiotikum (Exper. **3**, 202).
- Nager, U., 1948. Über die Chemie der Enniatine. Diss. E.T.H. (Basel, Birkhäuser).
- Plattner, Pl. A. und Nager, U., 1947. Über die Chemie des Enniatins. (Exper. **3**, 325).
- Plattner, Pl. A., Nager, U. und Boller, H., 1948. Über die Isolierung neuartiger Antibiotika aus Fusarien (Helv. Chim. Act. **31**, 594—602).
- Plattner, Pl. A. und Nager, U., 1948. Über die Konstitution von Enniatin B. (Helv. Chim. Act. **31**, 665—671).
- Wollenweber, H. W. und Reinking, O. A., 1935. Die Fusarien. Berlin.

*Aus der Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil
und der Eidg. landw. Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon*

Das Kirschbaumsterben im Baselland (Pfeffingerkrankheit)

Von

S. Blumer und J. Geering

Mit 17 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — I. Symptome. — II. Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung. — III. Bodenverhältnisse. — IV. Übertragungsversuche. — V. Das Auftreten der Symptome in den Versuchen. — VI. Ähnliche Krankheiten. — VII. Möglichkeiten der Bekämpfung. — Zusammenfassung. — Summary. — Literatur.

Einleitung

In den Gemeinden Pfeffingen und Aesch (Baselland) trat angeblich in den neunziger Jahren des letzten Jahrhunderts eine rätselhafte Krankheit an den Kirschbäumen auf, die sich mit der Zeit geradezu katastrophal auswirkte. Während diese Gebiete früher als bevorzugte Lagen weit herum bekannt waren, ist heute der Bestand an Kirschbäumen stark gelichtet, und unter den vorhandenen Bäumen sieht man viele, die den Todeskeim schon in sich tragen. Man stand bis jetzt dem Auftreten und der Weiterverbreitung dieser Krankheit machtlos gegenüber, weil man die Ursache nicht kannte. Die Praxis erwartete schon längst eine Lösung dieses Problems und kann oft kaum begreifen, daß man nicht schon längst eine wirksame Spritzung oder Düngung gefunden hat. Dabei haben die Eidg. Versuchsanstalten Wädenswil und Oerlikon in den letzten 12 Jahren sehr viel Zeit und Arbeit für die Erforschung der Pfeffingerkrankheit aufgewendet. Wenn wir auch heute noch nicht eine einfache Bekämpfungsmethode angeben können, so ist dies in der Art der Krankheit selbst begründet.

Den Anstoß zur wissenschaftlichen Behandlung dieses Problems gab seinerzeit Herr W. Kaiser, Gemeindepräsident von Pfeffingen, indem er die kantonale Obstbauberatungsstelle in Liestal und die Versuchsanstalt Wädenswil auf die Krankheit aufmerksam machte. Die Regierung des Kantons Baselland und die Abteilung für Landwirtschaft des Eidg. Volkswirtschaftsdepartements stellten auf Antrag des damaligen Direktors der Versuchsanstalt Wädenswil, Dr. K. Meier, die Mittel zur Erforschung der Pfeffingerkrankheit zur Verfügung. Im Herbst 1936 erhielt Dr. K. Roos den Auftrag, das Kirschbaumsterben im Baselland eingehend zu untersuchen. Er stellte sich

schon zu Beginn der Arbeit die Frage, ob es sich um eine Infektionskrankheit handle, oder ob die Pfeffingerkrankheit auf besondere Bodenverhältnisse zurückzuführen sei. 1938 veröffentlichte er eine erste Mitteilung über die äußeren Symptome der Krankheit, und 1940 folgte eine eingehende und gewissenhafte Untersuchung der anatomischen Veränderungen. Roos setzte seine Arbeit weiterhin in beiden Richtungen fort. Ein Abschluß seiner Untersuchungen blieb ihm jedoch versagt, da er 1942 tödlich verunglückte.

Dr. K. Meier, der das Problem schon 1943 von der bodenkundlichen Seite bearbeitet hatte, veröffentlichte 1946 die nachgelassenen Notizen von Dr. Roos. Er kam dabei zu folgenden Schlußfolgerungen über die Ursache der Krankheit (18, S. 519):

„Alle Ergebnisse, auch die später erweiterten Bodenuntersuchungen deuten darauf hin, daß das Baumsterben auf einem Mangel an Nährstoffen beruht, der durch entsprechende Düngung und Bodenbearbeitung zu beheben ist.“

Im Mai 1944 erhielten die Verfasser den Auftrag, das Problem erneut zu bearbeiten. Es handelte sich für uns in erster Linie darum, die Ursache der Krankheit abzuklären. Die Fragestellung war für uns also genau die gleiche wie seinerzeit für Roos. Die agrikulturchemische Untersuchung wurde von der Versuchsanstalt Oerlikon (J. Geering, F. Bachmann, E. Frei, A. Stettbacher) durchgeführt, während unabhängig davon an der Versuchsanstalt Wädenswil durch S. Blumer die phytopathologische Bearbeitung an die Hand genommen wurde. Leider konnten wir uns dem Problem nicht so widmen, wie dies eigentlich wünschenswert gewesen wäre, doch kamen wir immerhin zu einer eindeutigen Abklärung der Krankheitsursache.

Wir wurden in unserer Arbeit vor allem durch Herrn W. Kaiser, Gemeindepräsident in Pfeffingen, unterstützt. Ebenso stellte sich Herr Dr. A. Meyer, Leiter der kantonalen Obstbauberatungstelle immer wieder zur Verfügung und gab uns manche wertvolle Anregung. Beiden Herren danken wir für ihre Mithilfe bestens. Unser Dank gilt auch dem Vorsteher des kantonalen Departements des Innern, Herrn Regierungsrat Dr. H. Gschwind, der unserer Arbeit stets Interesse und Verständnis entgegenbrachte.

I. Symptome

Die Symptome der Pfeffingerkrankheit wurden von Roos (16) eingehend beschrieben. Wir können seine Angaben durch Beobachtungen an den in Wädenswil durchgeföhrten Ppropfversuchen ergänzen¹⁾.

Mangelnde Triebkraft. Neben dem Absterben von Zweigen und Ästen ist der mangelnde Wuchs eines der auffälligsten Merkmale der kranken Bäume in Pfeffingen und Aesch. Wir konnten diese Erscheinungen auch in unseren Versuchen an kranken Ppropfreisern beobachten. Die Ppropfungen

¹⁾) Für die fachgemäße und sorgfältige Durchführung dieser Versuche sind wir Herrn Obstbautechniker W. Bryner, sowie den Herren Niklaus und Meyer in Wädenswil zu Dank verpflichtet.

wurden im Oktober 1945 durchgeführt, und zwar auf einheitliche Unterlagen. Die Pflanzen standen in Prodorittöpfen und alle erhielten die gleiche Düngung. Am 10. April 1947 wurde bei allen Ppropfungen, bei denen die Unterlage nicht ausgetrieben hatte, der Zuwachs des Jahres 1946 gemessen.

Wir erhielten folgende Resultate:

Sorte	Zuwachs bei gesunden	Zuwachs bei kranken
	Edelreisern	Edelreisern
Basler Langstieler	68,3 cm	29,3 cm
Schauenburger	64,9 cm	30,8 cm
Späte Kracher	—	26,3 cm

Die Reduktion des Triebwachstums kranker Edelreiser ist also auf gleicher Unterlage und bei derselben Düngung sehr auffällig. Es muß dabei noch erwähnt werden, daß die Edelreiser allerdings von kranken Bäumen stammten, aber sie wurden von schwach erkrankten Zweigen geschnitten. In einem weiter fortgeschrittenen Stadium der Krankheit wäre eine Ppropfung

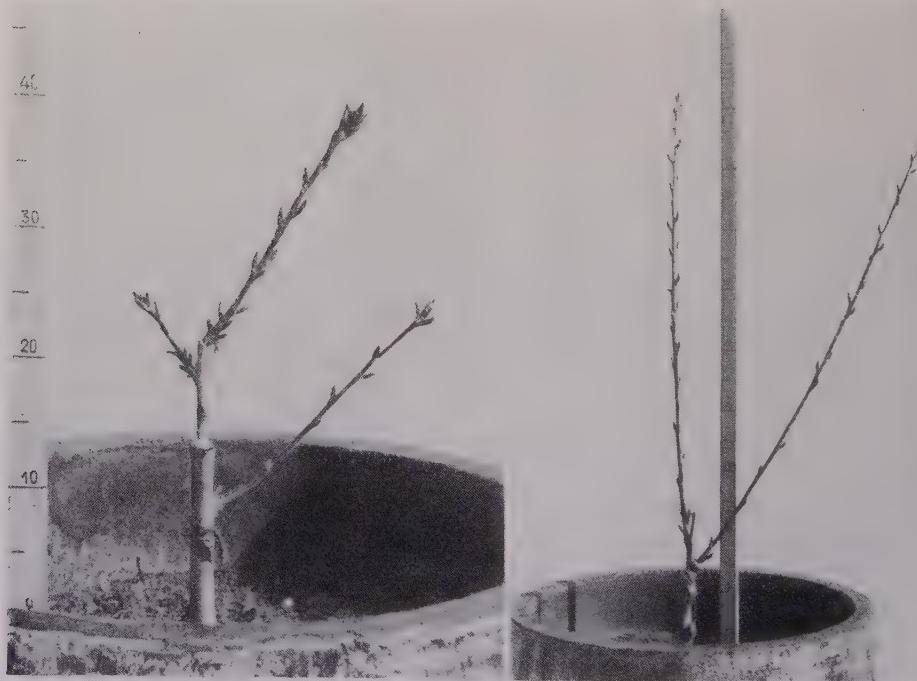


Abb. 1
Hemmung des Triebwachstums und Häufung der Knospen. Links krankes Edelreis, rechts gesundes Edelreis der Sorte Schauenburger

überhaupt nicht mehr möglich gewesen. Es mußte ohnehin zweijähriges Holz verwendet werden.

Häufung der Knospen. Die Zahl der Knospen ist bei kranken Trieben etwas geringer als bei gesunden. Bei der Sorte Langstieler hatte ein gesunder Trieb in unsren Versuchen durchschnittlich 24 Knospen, ein

kranker 18. Bei der Sorte Schauenburger ist das Verhältnis 25:20, und bei der Sorte Späte Kracher tragen kranke Zweige im Mittel 21 Knospen. Da aber das Triebwachstum kranker Zweige auf weniger als die Hälfte reduziert ist, ergibt sich eine auffällige Häufung der Knospen. Die Zahl der Terminalknospen beträgt bei gesunden Edelreisern 1—2, bei kranken



Abb. 2

Primärsymptome. Links und Mitte Ölklecken und leichte Deformationen, rechts Mosaik

im Mittel 2,4, doch finden wir nicht selten Triebe mit 4—5 dicht gedrängt stehenden Terminalknospen. (Abb. 1). Je weiter die Krankheit fortgeschritten ist, um so auffälliger wird die Häufung der Knospen. Diese Erscheinung ist so charakteristisch, daß Bäume in diesem Stadium der Krankheit auch in unbelaubtem Zustande zu erkennen sind. Ein Teil dieser Knospen treibt allerdings nicht mehr aus.

Gehemmter Austrieb. Nach Roos (16) erfolgt der Knospenaufbruch bei gesunden und kranken Bäumen gleichzeitig. In unseren Versuchen war schon hier eine Verzögerung von einigen Tagen festzustellen. Auf alle Fälle verläuft die weitere Entwicklung bei kranken Bäumen bedeutend langsamer als bei gesunden. Die Blüten bleiben länger geschlossen, sie haben kürzere Stiele. Roos stellte an den Kelchen eigenartige Schrumpfungen fest. Auch die Blätter entwickeln sich nur langsam und behalten lange eine hellbräunliche Farbe.



Abb. 3
Verschiedene Deformationen der Blätter

Blätter. Die Symptome der Pfeffingerkrankheit an den Blättern sind äußerst vielgestaltig. Die Blätter sind entweder von normaler Größe, oder sie sind bedeutend kleiner und vor allem schmäler. Diese beiden Haupttypen der Blätter zeigen im einzelnen ganz verschiedene Krankheitserscheinungen.

An den Blättern von normaler Größe treten im Frühling oft ziemlich große olivgrüne Verfärbungen von unregelmäßiger Form auf (Abb. 2, links). Sie können gelegentlich die Hälfte eines Blattes einnehmen. Im Laufe des Sommers werden diese „Ölflecken“ weniger auffällig.

Im Spätsommer und im Herbst erscheinen an Blättern von normaler Größe häufig hellgrüne oder gelbgrüne Mosaikflecken (Abb. 2, rechts). In unseren Versuchen war dieses Mosaik auf den Unterlagen deutlicher als bei den aufgepfropften Baslersorten. Immerhin konnten wir am 13. Oktober 1947 das Mosaik auch in Pfeffingen feststellen. In einem Falle beobachteten wir auf der Unterlage im Herbst typische, wenn auch schwache Ringflecken (ring spot).

Sehr auffällig sind die Mißbildungen, die an Blättern von normaler Größe auftreten können. Es kann sich dabei im einfachsten Falle nur um eine asymmetrische Entwicklung der beiden Blatthälften handeln. Dieser Typus kommt häufig an Blättern mit „Ölflecken“ vor; wenn die eine Blatthälfte zum größten Teil olivgrün verfärbt ist, bleibt sie im Wachstum zurück. In andern Fällen fehlt die Blattspitze, oder sie ist nur als schmaler Fortsatz angedeutet (Abb. 3). Endlich erscheint oft der obere Teil des Blattes plötzlich verschmälert, so daß das Blatt fast dreilappig aussieht. Ob die

häufig beobachtete Knickung der Hauptrippe (meist nach unten) ebenfalls als Symptom der Pfeffingerkrankheit gelten muß, oder ob es sich um eine Wirkung von Blattlauseinstichen handelt, ist vorläufig noch nicht abgeklärt.

Weitaus das auffälligste Symptom der Pfeffingerkrankheit ist eine ausgeprägte Kleinblättrigkeit, die den kranken Bäumen die treffende Bezeichnung „Spitzlauber“ eingetragen hat (Abb. 4). Roos (16) fand, daß normale Blätter der Sorte Schauenburger im Mittel 14,4 cm lang und 7 cm breit sind. Kranke Blätter dieser Sorte haben eine durchschnittliche Länge von 9,3 cm und eine Breite von nur 3 cm. Die kranken Blätter fühlen sich steif und trocken („röschen“) an. Sie sind wesentlich dicker als normale Blätter. Nach Roos beträgt die Dicke gesunder Blätter rund 151μ , die der kranken Blätter aber 219μ . Das Schwammparenchym ist bei kranken Blättern doppelt so dick als bei normalen. Auch die obere Epidermis ist bedeutend dicker. Diese kleinen Blätter haben nicht das helle Grün normaler Blätter, sie sind meistens etwas bräunlich verfärbt und weisen einen geringeren Chlorophyllgehalt auf. Sieht man diese kranken Blätter einzeln, so würde man sie überhaupt nicht mehr als Kirschenblätter erkennen.



Abb. 4
Kleinblättrigkeit

Mit der Kleinblättrigkeit erscheinen einige andere Symptome der Krankheit. Vor allem fällt die sehr ausgeprägte und scharfe Zähnung der Blätter auf. Die Rippen sind im allgemeinen heller als bei gesunden Blättern und stehen besonders auf der Unterseite stärker hervor. Gelegentlich sind die Seitenrippen leicht wellig verbogen. Seltener kann man beobachten, daß die Seitenrippen bis 5 mm weit als getrennte Stränge in der Hauptrippe nebeneinanderlaufen.

Auf der Unterseite der Blätter erscheinen gelegentlich längs der Hauptrippe oder längs der Seitenrippen dunkelgrüne Aufwölbungen (Abb. 17). Nach Roos (17) scheint es sich dabei um unregelmäßige Wucherungen des Schwammparenchyms zu handeln. Diese Erscheinung beobachteten wir in Pfeffingen allerdings nicht so häufig, wie bei der Krankheit von Dollikon (Abb. 17). Endlich beobachtete Roos auch eine stärkere Behaarung der kranken Blätter auf der Unterseite.

Diese kleinen, schmalen Blätter erscheinen gewöhnlich als Sekundärsymptome an Zweigen, die durch Hemmung des Längenwachstums eine starke Häufung der Knospen aufweisen. Sie bedingen das charakteristische Bild der Pfeffingerkrankheit im Sommer (Abb. 5). In extremen Fällen tragen die Zweige nur noch an der Spitze eine Rosette kleiner, schmaler Blätter.



Abb. 5

Sekundärsymptome: Kleinblättrigkeit und beginnende Rosettenbildung. Links oben ein Zweig mit Blättern von normaler Größe. (Bild: Dr. A. Meyer)

Blattstiele. Nach Roos (17) sind die Blattstiele der kleinen, schmalen Blätter stets dünner und zeigen Schrumpfungen, die gegen die Ansatzstelle allmählich zunehmen. In unseren Versuchen fiel es auf, daß an den Blattstielen kranker Zweige mehr extraflorale Nektarien auftraten als auf gesunden Zweigen. Diese Erscheinung war auch an kranken Zweigen mit Blättern von normaler Größe festzustellen. Eine statistische Aufnahme ergab allerdings, daß die Zahl der extrafloralen Nektarien an diesjährigen Trieben größer ist als am vorjährigen Holz. Daneben waren jedoch auch deutliche Unterschiede zwischen gesunden und kranken Zweigen festzustellen. Wir erhielten folgende Durchschnittswerte für die Zahl der extrafloralen Nektarien:

	gesund	krank
Blattstiele an diesjährigen Trieben	2,21	2,58
Blattstiele an letztjährigen Trieben	1,49	2,84

Auch in Pfeffingen konnten wir nachträglich an kranken Bäumen eine größere Zahl von extrafloralen Nektarien feststellen.

Entwicklung der Früchte. Schon Roos (16) machte darauf aufmerksam, daß die Fruchtstiele bei Früchten kranker Bäume kürzer bleiben. Diese Erscheinung zeigt sich nicht nur bei jungen Früchten, sondern auch noch zur Zeit der Ernte. Die Länge der Fruchtstiele betrug für einen gesunden Baum der Sorte Schauenburger durchschnittlich 46,5 mm, bei einem kranken Baum jedoch nur 39,6 mm.

Wir hatten leider nicht Gelegenheit, die Entwicklung der Früchte gesunder und kranker Bäume im einzelnen zu verfolgen und müssen uns hier ganz auf die Beobachtungen von Roos (16) stützen. Nach seinen Feststellungen erscheint die Entwicklung der Früchte an kranken Bäumen von Anfang an gehemmt. Junge Früchte sind etwas länglich. Später wird die Form unregelmäßig und die Oberfläche ist rauh. Zur Zeit der Reife treten häufig Querfalten an den Früchten auf. Zur normalen Reifezeit sind die Früchte kranker Bäume noch nicht genießbar. Die Reifeverzögerung beträgt 10—14 Tage.

Die von Roos angegebene geschmackliche Entwertung kranker Früchte konnten wir nicht bestätigen. In den uns von Herrn Kaiser zugestellten Proben waren die gesunden Früchte schon überreif, so daß die in der Entwicklung zurückgebliebenen Früchte geschmacklich frischer, besser und auf alle Fälle sortentypisch waren. Nach Mitteilung von Herrn W. Kaiser haben die Früchte kranker Bäume einen säuerlichen Geschmack, doch sind diese geschmacklichen Unterschiede in sonnenreichen Jahren weniger ausgeprägt. Für die Praxis machte sich besonders die Reifeverzögerung der kranken Früchte unliebsam bemerkbar. Da am gleichen Baume gesunde und kranke Äste nebeneinander vorkommen, wird die Ernte sehr erschwert.

Allgemeines Fortschreiten der Krankheit. Es ist für die Pfeffingerkrankheit typisch, daß die Anfänge der Erkrankung zuerst nur an einzelnen Zweigen auftreten, und zwar treten als erste Symptome vermutlich immer im Frühjahr „Ölflecken“ und im Laufe des Sommers das Mosaik auf. Da diese Erscheinungen nicht sehr auffällig sind, wird gewöhnlich das erste Auftreten der Krankheit überhaupt nicht beachtet. Erst wenn als weitere Symptome die Hemmung im Triebwachstum und die Kleinblättrigkeit auftreten und sich im Laufe weniger Jahre von einem Zweige aus über den ganzen Baum verbreiten, wird man auf die Krankheit aufmerksam (Abb. 6). Die Schnelligkeit der Ausbreitung im Baum ist übrigens sehr verschieden. In einem unserer Versuche wurde ein fünfjähriger Baum in drei Jahren zur Ruine. Bei großen Bäumen schreitet die Krankheit langsamer fort, aber im Hauptherd der Krankheit müssen Jahr für Jahr zahlreiche Bäume im besten Ertragsalter gefällt werden. Da kranke Bäume weniger widerstandsfähig gegen Winterkälte und Frost sind, werden die Ausfälle noch bedeutend vergrößert.

Anatomische Veränderungen. Roos (17) gibt eine ausführliche Zusammenstellung der durch die Krankheit verursachten anatomischen Veränderungen, die hier der Vollständigkeit wegen kurz angeführt werden sollen. Für Einzelheiten verweisen wir auf die Originalarbeit.



Abb. 6

Verschiedene Stadien der Krankheit: Oben links: Kleinblättrigkeit und Rosettenbildung, daneben noch Äste mit normaler Belaubung. Oben rechts: Nur noch im Zentrum der Krone einige Äste mit Blättern von normaler Größe. Unten links: Beginnende Absterbeerscheinungen. Unten rechts: Endstadium der Krankheit

In den Blättern und vor allem in den Blattstielen tritt eine zunehmende Schrumpfung der Gewebe und vor allem eine Desorganisation des Phloems auf. Die Breite der Jahrringe nimmt in kranken Zweigen ab, oft wird nur noch das Frühholz gebildet, so daß die Abgrenzung der Jahrringe undeutlich wird. Durch eine pathologische Gummibildung in kranken Ästen und Zweigen wird die Wasserzufuhr unterbunden. Die Verstopfung der Gefäße durch Gummi ist bei stark erkrankten Bäumen besonders an den Hauptwurzeln und an der Stammbasis sehr weit fortgeschritten. Da diese Erscheinung im Anfang der

Erkrankung noch nicht nachzuweisen ist, betrachtet Roos die pathologische Gummibildung in den Gefäßen wohl mit Recht als eine Folge, nicht als eine Ursache der Erkrankung. Dagegen glaubt er, daß die Krankheit immer mit dem Absterben der Wurzelfasern beginne.

II. Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung

Schon Roos hat nachgewiesen, daß die Pfeffingerkrankheit nicht auf die Gemeinden Pfeffingen und Aesch beschränkt ist. Wir können ihre tatsächliche Verbreitung aber auch heute noch nicht mit Sicherheit feststellen, weil uns genaue Bestandesaufnahmen im Hauptherd der Krankheit und in den umliegenden Gebieten fehlen. Da die charakteristischen Symptome der Krankheit in der Praxis noch nicht genügend bekannt sind, bleibt es mehr oder weniger dem Zufall anheimgestellt, ob wir von neuen Krankheitsfällen etwas erfahren.

1. Die Gemeinden Aesch und Pfeffingen

Der Hauptherd der Krankheit ist auch heute noch im Gebiete dieser beiden Gemeinden, 10 km südlich von Basel. Roos (16) führte 1936 eine Bestandesaufnahme durch. Bei einem Bestande von 4282 Bäumen fand er damals 461 kranke und 293 verdächtige Bäume. Als verdächtig bezeichnet er Übergangsformen zwischen gesunden und kranken Bäumen, von denen er selber auffaßt, daß es sich um eine beginnende Erkrankung handle. Da wir jetzt die weniger auffälligen Primärsymptome etwas besser erfassen können, dürfen wir wohl diese verdächtigen Bäume mit Sicherheit als krank bezeichnen. Damit käme man nach Roos auf etwa 18% kranke Bäume in Aesch-Pfeffingen. Diese Zahlen geben aber nur ein unvollständiges Bild der Bedeutung dieser Krankheit für die beiden Gemeinden. Roos erwähnt, daß in den 10 Jahren vor seiner Bestandesaufnahme rund 1000 Kirschbäume gefällt werden mußten, und nach Mitteilung von Herrn W. Kaiser betrug der Abgang in den Jahren 1936—46 wiederum etwa 500—600 Bäume.

Die Bestandesaufnahme in Aesch und Pfeffingen wird gegenwärtig von Dr. A. Meyer weitergeführt. Man wird kaum fehlgehen, wenn man annimmt, daß trotz der alljährlichen Abgänge in den letzten Jahren auch heute noch mindestens 10% des Baumbestandes mehr oder weniger stark erkrankt sind. Von den 1000 Jungbäumen, die seinerzeit nach Pfeffingen und Aesch geliefert wurden, ist heute ein großer Teil erkrankt. Seit Jahrzehnten führt man nun in diesen Gemeinden einen zähen, verbissenen Kampf gegen die langsam, aber stetig zunehmende Verseuchung, ohne daß dabei ein Erfolg festzustellen wäre.

2. Andere Krankheitsherde in der Umgebung von Basel

Im Gebiet südlich von Basel fand Roos seinerzeit einen größeren kranken Baumbestand bei Bottmingen, sowie vereinzelte kranke Bäume nördlich von Aesch in den Gemeinden Therwil, Binningen, Ettingen, Reinach und Arlesheim. Im Mai 1948 zeigte uns Dr. A. Meyer in Binningen einen ausgedehnten Bestand von Bäumen mittleren Alters mit ausgeprägter Kleinblättrigkeit. Die

Primärsymptome und die Rosettenbildung traten dort nicht stark auf, so daß man den Eindruck hatte, daß die Krankheit nicht so verheerend auftrat wie in Pfeffingen. Südlich von Pfeffingen scheint die Krankheit bis jetzt noch nicht beobachtet worden zu sein.

Im Gebiete südöstlich von Basel stellten wir 1948 ein sehr starkes Auftreten der Krankheit in der Gemeinde Muttenz fest. Auf drei benachbarten Betrieben, die früher einen sehr guten Kirschbaumbestand aufwiesen, mußten alljährlich mehrere Bäume im besten Ertragsalter gefällt werden. Die Krankheit scheint sich hier in einem sehr akuten Stadium zu befinden.

Roos fand die Pfeffingerkrankheit im Kanton Baselland außerdem in den Gemeinden Arisdorf, Zeglingen und Wenslingen, doch scheinen hier die Symptome nach Dr. Meyer nicht eindeutig zu sein. Der von Roos in Riehen (nordöstlich von Basel) festgestellte Herd scheint heute nicht mehr zu bestehen.

Es wäre interessant, die Verbreitung der Krankheit auch in der badischen Nachbarschaft zu verfolgen und es erscheint nicht ausgeschlossen, daß ein Zusammenhang mit einer der Krankheiten besteht, die im Rheingebiet als Kirschbaumsterben beschrieben wurden.

3. Verbreitung in anderen Kantonen

Nach dem Bericht der aargauischen Zentralstelle für Obstbau (1941) soll die Pfeffingerkrankheit auch im Fricktale auftreten. Wir hatten 1948 Gelegenheit, mit dem jetzigen Leiter der Zentralstelle, Herrn O. Schmid, eine Besichtigung vorzunehmen. Die Symptome waren aber hier nicht eindeutig, und man wird das Ergebnis der Übertragungsversuche abwarten müssen. Nach brieflicher Mitteilung von M. Stahel traten 1945 auch in Unterbözberg ähnliche Krankheitserscheinungen auf.

In der Ostschweiz kennen wir bis jetzt nur einen Herd der Pfeffingerkrankheit in Maur am Greifensee, Zürich. Auf diesen Fall machte uns Herr Obstbautechniker Bryner aufmerksam. Die Entfernung zwischen Maur und dem Hauptherd der Krankheit in Pfeffingen beträgt in der Luftlinie rund 84 km. Wir betrachten es als sicher, daß die Krankheit in diesem Falle durch kranke Edelreiser hierher gebracht wurde. Sie hat sich auf diesem Betriebe von Jahr zu Jahr stärker ausgebreitet und scheint durch einen verpflanzten Baum auch in die Nachbarschaft verschleppt worden zu sein.

4. Wirtschaftliche Bedeutung

Die wirtschaftlichen Auswirkungen der Pfeffingerkrankheit erreichten für die Gemeinden Pfeffingen und Aesch ein katastrophales Ausmaß und bedingten eine teilweise Umstellung der landwirtschaftlichen Produktion. Pfeffingen war früher ein Zentrum des baslerischen Kirschenbaues. Heute hat die Krankheit große Lücken in die Baumbestände gerissen. Das Gebiet zwischen Pfeffingen und der Klus, das früher einen Wald von Kirschbäumen darstellte (Roos), weist heute nur noch vereinzelte Bäume auf.

Der jährliche Ernteausfall wurde von Roos seinerzeit auf rund 7300 Fr. geschätzt. Die heutige Einbuße muß sicher viel höher eingeschätzt werden. Dazu käme noch der Ausfall an ertragfähigen Bäumen. Genaue Zahlen über die gegenwärtigen und zu erwartenden Verluste könnten nur auf Grund einer neuen Bestandesaufnahme errechnet werden. Für die betroffenen Besitzer besteht immer die deprimierende Gewißheit, daß ein Baum, der heute noch zu den besten Hoffnungen berechtigt, in wenigen Jahren nur noch eine Ruine sein wird.

III. Bodenverhältnisse

Die Besichtigung der Pfeffinger Kirschbaumgärten im Frühjahr 1944 unter der Führung von Herrn Gemeindepräsident W. Kaiser führte zur Feststellung, daß die auf Grund der bereits früher durchgeföhrten umfangreichen Bodenuntersuchungen getroffenen Düngungsmaßnahmen und insbesondere die Volldüngergaben mit Einschluß von Bor zu den 1936 in großer Zahl angepflanzten Jungbäumen das weitere Neuaufreten der typischen Krankheitsmerkmale nicht durchschlagend zu verhindern vermochten. Die Auffassung der Pfeffingerkrankheit als Nährstoffmangelerscheinung war damit natürlich nicht als endgültig umgestoßen zu betrachten, nur mußte der gesuchte eventuelle Mangelfaktor weiterhin als noch unerkannt angenommen werden. Um die Bedeutung der aus den erwähnten früheren Untersuchungen abgeleiteten allgemein starken Düngebedürftigkeit der in Frage stehenden Böden für Kali und namentlich für Phosphorsäure im Zusammenhang mit der Pfeffingerkrankheit weiter abzuklären, wurde es für notwendig erachtet, erneut eine größere Zahl von Bodenproben von gesunden und von kranken Bäumen einander gegenüberzustellen.

Da uns absolute und nachgeprüfte Maßstäbe für die Beurteilung und Auswertung der Ergebnisse chemischer und physikalischer Bodenuntersuchungen in bezug auf den Obstbau nicht in gleichem Maße zur Verfügung stehen wie für den allgemeinen Feldbau, muß sich die Auswertung von Untersuchungsergebnissen statt auf fragliche Grenzzahlen in stärkerem Maße auf Vergleiche von anscheinend mangelhaften Bedingungen mit praktisch als normal und gut angesehenen Verhältnissen stützen. Die Einbeziehung benachbarter Gebiete mit analogen bodenkundlichen Voraussetzungen bedeutet für solche Untersuchungen eine besonders wertvolle Ergänzung.

Im Pfeffinger Gemeindebann erfolgte für diesen Zweck die Auswahl von gesunden und kranken Kirschbäumen für die Bodenuntersuchungen nach den Angaben von Herrn Gemeindepräsident W. Kaiser. Mit vergleichbaren geologischen und bodenkundlichen Verhältnissen, aber ohne die ausgeprägte Mangelerscheinung der Pfeffingerkrankheit wurden an den Nordhängen des Tafeljuras an zwei Orten Bodenproben unter Kirschbäumen erhoben. Es betrifft dies das Gebiet von Wallbach-Mumpf mit der ortskundigen Unterstützung durch Herrn G. Fischer, Präsident des Obstbauvereins Wallbach und im weiteren einen Teil des Kirschengebietes von Eiken, wo die

Auswahl der Untersuchungsobjekte zusammen mit Herrn E. Gerber, Verwalter der landw. Genossenschaft Eiken, erfolgte. Es sei den genannten Herren sowie Herrn ing. agr. F. Moser, Brugg, für ihre bereitwillige Unterstützung besonders gedankt.

Es wurde jeweils bei einem ersten überblicksmäßigen Rundgang die Auslese der in die Untersuchung einzubeziehenden besonders kräftig-gesunden und ertragreichen Bäume einerseits und je einer Gruppe unbefriedigender, schwacher Bäume und kranker bzw. serbelnder Bäume andererseits vorgenommen und dann mit der Erhebung der Bodenproben gemeinsam mit Herrn Ing. agr. E. Schaefer begonnen. Die Erhebung der Bodenproben erfolgte mit Hilfe eines speziellen Probenahmegerätes, das mit relativ geringem Arbeitsaufwand eine schichtweise Probenahme bis 60 cm Tiefe erlaubt und das zeitraubende Ausheben von Probegruben überflüssig macht. Es wurden stets 4 Probestiche in der Zone der Kronentraufe gemacht und damit je Baum je 3 Mischproben von den Schichttiefen 0—10 cm, 10—30 cm und 30—60 cm hergestellt. Infolge geringerer Mächtigkeit der Bodenkrume oder allzu steinigen Bodens mußte man sich ausnahmsweise mit den beiden oberen Probenahmetiefen begnügen. Im ganzen wurden 162 Bodenproben entnommen, wovon 80 auf das Gebiet von Pfeffingen entfallen.

Entsprechend der gestellten Aufgabe erstreckte sich die Untersuchung der Bodenproben auf physikalische Zusammensetzung und Humusgehalt, Kalkgehalt und Reaktion, Düngedürftigkeit in bezug auf Phosphorsäure und Kali nach der Methode Dirks und Scheffer, Stickstoffgehalt und die beiden Spurenelemente Bor und Mangan.

An Stelle einer Besprechung der Untersuchungsergebnisse im einzelnen, die zu weit führen müßte, wird im folgenden versucht, an Hand einiger graphischer Darstellungen eine Übersicht über die ermittelten Bodenverhältnisse zu geben. Die dazu benützten analytischen Daten konnten ihres Umfangs wegen nicht zum Abdruck gebracht werden. Die wesentlichen zahlenmäßigen Resultate sind jedoch auch den graphischen Darstellungen zu entnehmen.

In den Abb. 7—13 sind in gleichartiger Gruppierung den Pfeffinger Böden (A) diejenigen von Eiken, Mumpf und Wallbach als Sammelgruppe (B) gegenübergestellt. Diese beiden Bodenuntersuchungsgruppen A und B sind in die drei Untergruppen aufgeteilt:

- Bodenproben von gesunden, kräftigen und ertragreichen Bäumen,
- Bodenproben von anscheinend gesunden, aber schwachen, unbefriedigenden Bäumen
- Bodenproben von Bäumen mit Pfeffingerkrankheit (A) und von allgemein kranken und serbelnden Bäumen (B).

Die Bodenproben aus den drei untersuchten Bodenhorizonten sind je mit I=0—10 cm, II=20—30 cm und III=30—60 cm bezeichnet. Im einzelnen aufgezeichnet sind endlich die horizontenweisen Mittelwerte der Gehaltszahlen (breiterer schwarzer Stab) und links und rechts davon die beobachteten

Minimal- und Maximalwerte (schmale weiße Stäbe). Letztere sollen einen Hinweis liefern über die absolute Bedeutung der zwischen den Mittelwerten der einzelnen Beobachtungsgruppen feststellbaren Unterschiede. Die Anzahl der erhobenen und untersuchten Bodenproben beträgt insgesamt für die Gruppen A/a=29, A/b=24, A/c=27, B/a=50, B/b=23 und B/c=9.

Zur Charakterisierung der vorliegenden Bodenarten, die sich nach der Beurteilung an Ort und Stelle als durchgehend tonreiche und in den unteren Schichten ziemlich dichtgelagerte, mittelschwere bis schwere Böden erwiesen, wurden in Abb. 7 und 8 deren Ton- und Humusgehalte herangezogen. Als eigentliche schwere Tonböden sind solche mit einem 50% übersteigenden Anteil an abschlämmbaren feinsten Teilchen (nach Kopecky) zu bezeichnen, während bei einem Tonanteil von 50—40% noch von tonigen Lehmböden,

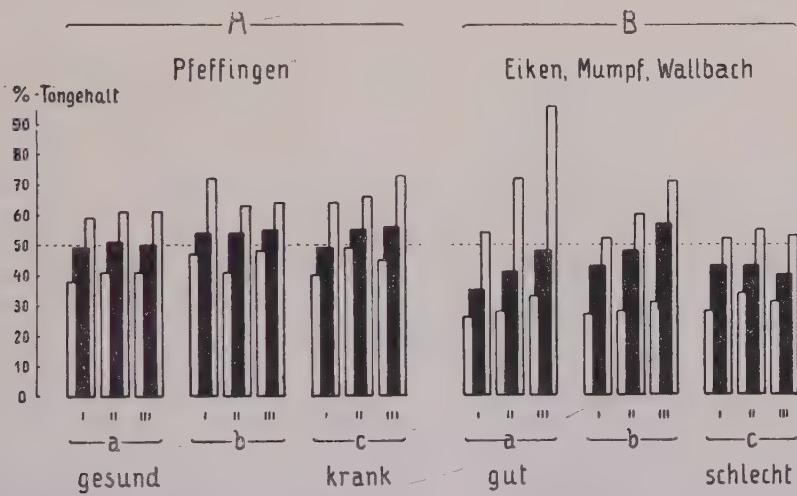


Abb. 7
Tongehalte (abschlämmbare Bodenteilchen unter 0,01 mm)

bei 40—30% dagegen bereits von einem nur noch mittelschweren Lehmboden mit besten physikalischen Eigenschaften gesprochen werden kann. Beim Vergleich der Tongehalte der gesunden und kranken Böden sind wohl merkliche Unterschiede zwischen den Gruppen A (Pfeffingen) und B (Wallbach, Mumpf und Eiken) festzustellen, doch zeigen die teilweise sehr großen Schwankungen der extremen Werte, insbesondere bei B/a (gesunde Bäume), daß ein kausaler Zusammenhang zwischen einem hohen Tongehalt der Böden und dem Befall durch die Pfeffingerkrankheit nicht bestehen kann. Es ist dazu allerdings zu bemerken, daß für die „Schwere“ eines Bodens nicht allein der Tongehalt verantwortlich zu machen ist, sondern daß dafür das Zusammentreffen weiterer ungünstiger Voraussetzungen, die ein dichtlagerndes Gefüge begünstigen, mit zu berücksichtigen ist. Der wichtigste unter den in Betracht fallenden weiteren Faktoren ist der Humusannteil des Bodens. Für schweizerische Verhältnisse sind schwach humose

(2—5% Humus) und humose (5—10% Humus) Böden die Regel. Ein eigentliches Humusproblem, wie es eine einseitige und ständige Ackernutzung aufwirft, gibt es für unsere Wechselwirtschaft und vor allem für unsere Naturwiesenböden mit ihrem reichlichen Anfall von nutzbaren Pflanzenresten nicht. Die Böden der Gruppen der kranken und unbefriedigenden Pfeffinger Kirschbäume stehen in dieser Beziehung wohl zufälligerweise am günstigsten da, lassen aber jedenfalls eine schlechtere Beurteilung der Bodenart als bei den Vergleichsgruppen nicht zu. Mit diesen Feststellungen war von einer Ausdehnung der Untersuchungen nach dieser Richtung (Bestimmung von Porenvolumen, Luft- und Wasserkapazität der Böden, Gefügeuntersuchungen) für die Abklärung der gestellten Frage wenig zu erwarten und durfte deshalb unterlassen bleiben.

Da für den Bodencharakter und den Nährstoffhaushalt im Boden auch der Kalkgehalt in Verbindung mit der Bodenreaktion bedeutungsvoll ist,

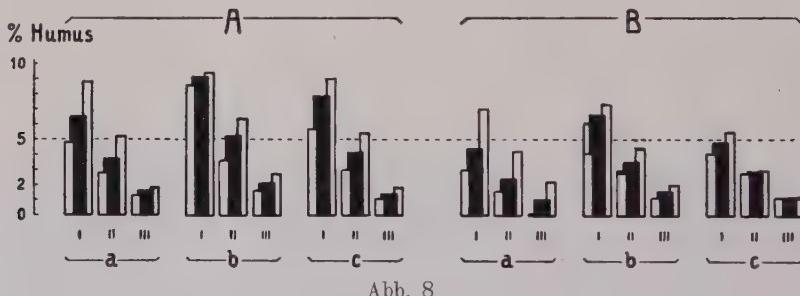


Abb. 8
Humusgehalte (bestimmt durch nasse Verbrennung)

müssen auch diese Verhältnisse berücksichtigt werden. Wenn in Abb. 9 die Mittelwerte im Kalkgehalt eine steigende Tendenz von gesunden zu kranken Bäumen anzudeuten scheinen, so ist anderseits wieder aus den Abweichungen der Einzelbeobachtungen zu vermerken, daß kranke Bäume auch auf Böden zu finden sind, die keinen Vorrat an kohlensaurem Kalk aufweisen und auch bei extrem hohem Kalkgehalt (vgl. B/a) gesunde und kräftige Bäume zu wachsen vermögen. Die Bodenreaktion entfernt sich in keinem der untersuchten Fälle allzu stark weder nach der sauren (pH-Werte unter 6) noch nach der alkalischen Seite (pH-Werte über 7). Die Betrachtung der Reaktionsverhältnisse in Abb. 9 (hier sind die Mittelzahlen durch die schwarzen Kreisflächen, die Minimal- und Maximalwerte durch die kleinen Ringe angegeben) führt daher wieder zum Ergebnis: Die Pfeffingerkrankheit kann in keinen ursächlichen Zusammenhang weder mit dem Kalkgehalt noch mit der Reaktion des Bodens gebracht werden. Denkbar wäre allenfalls eine Begünstigung des Auftretens der Krankheit bei stärker alkalischer Bodenreaktion und höherem Kalkgehalt, was aber erst durch erweiterte Untersuchungen sicherzustellen und zu beweisen bliebe.

In bezug auf die Nährstoffverhältnisse geben uns die Gehaltszahlen an Gesamtstickstoff (vgl. Abb. 10) mit ihrer ziemlichen Ausgeglichenheit

in allen 6 Untersuchungsgruppen ebenfalls keine bedeutsamen Unterschiede. Im allgemeinen können in Böden mit Stickstoffgehalten von über 0,2% gute Voraussetzungen für eine lebhafte Bodentätigkeit in einer gut durchlüfteten Bodenkrume angenommen werden. Da jedoch der nachweisbare

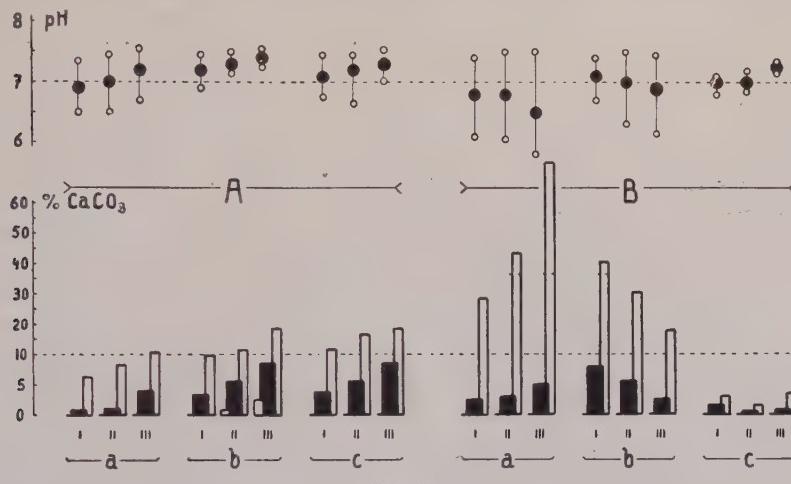


Abb. 9
Bodenreaktion und Gehalt an kohlensaurem Kalk

Gesamtstickstoffgehalt eines Bodens größtenteils in Form von lebenden und toten Pflanzenteilen und Bodenorganismen vorhanden ist und damit der Pflanze nicht ohne weiteres zur Verfügung steht, kann aus dem Stickstoffgehalt eines Bodens an und für sich nur sehr wenig über seine Düngebedürftigkeit in bezug auf Stickstoff ausgesagt werden. Die Pfeffinger-Böden sind mit den durchschnittlich und besonders bei den Untergruppen b (un-

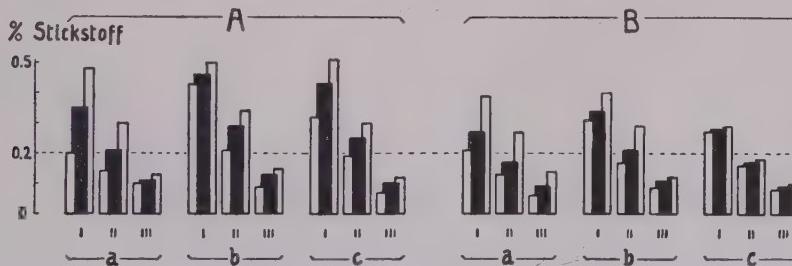


Abb. 10
Stickstoffgehalt des Bodens (Kjeldahl)

befriedigend) und c (krank) höheren Gehaltszahlen wieder eher günstiger zu beurteilen als die Böden der Sammelgruppe B (Eiken, Mumpf und Wallbach). Der höhere Stickstoffgehalt geht ziemlich parallel mit den bereits besprochenen Humusgehalten und kann unter den obwaltenden sonstigen Umständen als eine Bestätigung biologisch sicher nicht abnormer oder unterdurchschnittlich guter Bodenverhältnisse in Pfeffingen betrachtet werden.

Die Analysendaten über Phosphorsäure und Kali beziehen sich auf die mit Hilfe von Kohlensäure- bzw. Bikarbonatauszügen (Methode Dirks und Scheffer) bestimmten leichtlöslichen Bodenvorräte an diesen beiden Hauptnährstoffen. Für die Phosphorsäure zeigt der Vergleich der bei gesunden und kranken Pfeffinger Kirschbäumen gefundenen Testzahlen (Abb. 11: A/a und A/c) wiederum keine Unterschiede, die sich in einen unmittelbaren Zusammenhang mit dem Auftreten der Pfeffingerkrankheit bringen ließen. Sehr ausgeprägt tritt, in Übereinstimmung mit früheren diesbezüglichen Untersuchungen (19) in den Abb. 11 und 12 übrigens die obere Krumenschicht von 0—10 cm Tiefe als Hämptrager des Bodenvorrates an Phosphorsäure und Kali hervor (Naturwiesen). Beim Kali sind die aufgefundenen Verhältnisse besonders interessant und zeigen in Abb. 12, daß für das Auftreten der Pfeffingerkrankheit eine eventuell mangelhafte Kaliversorgung jedenfalls nicht verantwortlich gemacht werden kann, denn die kranken Bäume verfügen im Durchschnitt in der ganzen untersuchten Bodenschicht über mehr Kali als die gesunden (vgl. Abb. 12: A/c und A/a). Es darf bei dieser Gelegenheit die Annahme als durch das Untersuchungsergebnis bestätigt gelten, daß der Landwirt dem Auftreten von Mängelerscheinungen in einem Umfang, wie dies bei den Pfeffinger Kirschbäumen der Fall ist, in erster Linie durch eine Verstärkung der Düngergaben als einfachster Maßnahme zu begegnen sucht. Es ist ja wohl so, daß, trotz Anwendung besonders starker Güllegaben oder auch von Volldüngergaben mit der Dünger-

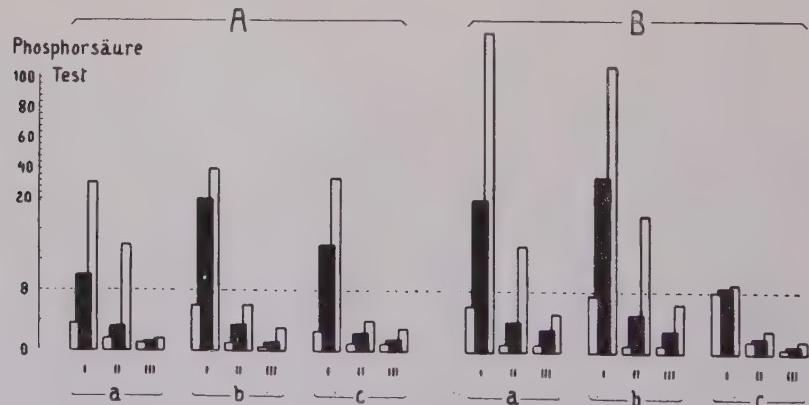


Abb. 11
Gehalt an Phosphorsäure (Testzahlen nach Dirks u. Scheffer im CO_2 -Wasserextrakt)

lanze, befallene Bäume nicht wieder zur Gesundung gebracht werden konnten, und eigentlich erst nach dem Versagen der „Hausmittel“ von einer Pfeffingerkrankheit gesprochen wurde.

Ein wesentlich abfallendes Bild bieten die Böden der Serbelbäume der Vergleichsgruppe B (Abb. 12: B/c). Diese Gruppe umfaßt jedoch nur 3 Bäume, so daß die niedrigen Durchschnittszahlen für Kali vielleicht zufälligerweise so

stark zurücktreten und damit der naheliegende Schluß auf Kalimangel als allgemeine und alleinige Ursache des Serbelwuchses nicht absolut gesichert erscheint. Tatsächlich finden sich unter den als gesund und kräftig beurteilten Bäumen solche, deren Böden keine höheren Kalizahlen (vgl. Minimalwerte bei A/a und B/a) aufweisen und die trotzdem von der Praktikerseite als zum Teil sogar ältere und ertragreichere Bäume ohne Mängelscheinungen

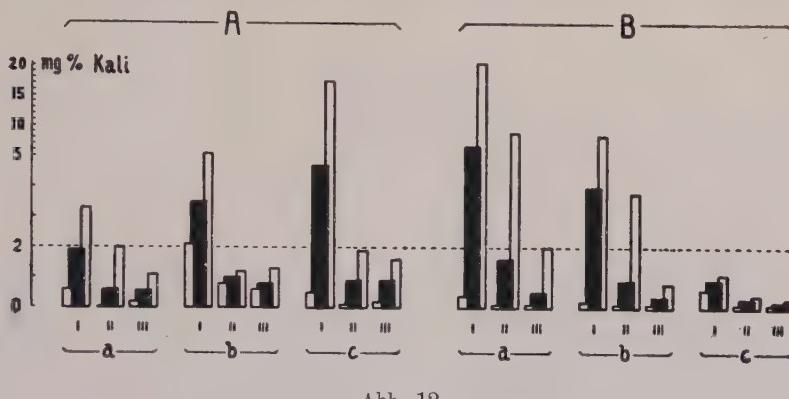


Abb. 12
Gehalt an Kali (mg/100 g Boden, Bikarbonatextrakt)

vorgestellt wurden. Es könnten hier auch große individuelle Unterschiede von Baum zu Baum (Unterlage) in bezug auf Wurzelwachstum und Nährstoffaufnahmevermögen mit im Spiel sein.

Auf abgelegenen und aus diesem Grunde ziemlich mageren Böden im untersuchten Gebiet von Eiken (und Wallbach) sind mit kräftigen Güllegaben rasche und sichtlich erfreuliche Ergebnisse bei angeblich vorher ganz unbefriedigenden Kirschbäumen erzielt worden, wie dies sicher auch bei entsprechenden Handelsdüngergaben in fester oder flüssiger Form (Lanze) der Fall sein würde. Eine kräftige Güllegabe im Spätwinter oder Vorfrühling kommt ebenfalls einer guten Volldüngergabe gleich; denn eine dicke Gülle enthält nicht nur reichlich Kali und Stickstoff, sondern weist auch einen erheblichen Phosphorsäuregehalt auf, der um so größer ist, je kotreicher die Gülle hergestellt wird. Besondere Bedeutung ist dabei dem Umstand zuzuschreiben, daß der in der Gülle organisch gebundene Phosphor wahrscheinlich tiefer in den Boden einzudringen vermag als die wasserlösliche Phosphorsäure der Handelsdünger (14).

Als Ursache von Mängelscheinungen kann schließlich auch ein ungenügendes Vorhandensein sogenannter Spurenelemente in Frage kommen. Auf dem Wege der Bodenuntersuchung sind zwar auf diesem Gebiete bisher nicht besonders ermutigende Resultate erzielt worden. Dies röhrt daher, daß einige dieser nur in spurenmäßigen Mengen für das normale Pflanzenwachstum unentbehrlichen Elemente im Boden wohl in ausreichendem Maße vorhanden wären, aber wegen ungünstiger Nebenumstände (Bodenreaktion, hoher Kalkgehalt) von den Pflanzen nur in ungenügender Menge aufgenommen werden

können. Bis hier in der Untersuchungsmethodik weitere Fortschritte erreicht sind, wird man beim Auftreten unbekannter Krankheitserscheinungen, die auf Mangel an Spurenelementen beruhen könnten, mehr auf eine versuchsmäßige Anwendung der einzelnen in Frage kommenden Elemente angewiesen sein. Im vorliegenden Falle wurde die Untersuchung auf die beiden Spurenelemente Bor und Mangan beschränkt, deren Ungenügen unter schweizerischen Verhältnissen als öftere Ursache von Mangelerscheinungen bekannt ist. Die angegebenen Gehaltszahlen beziehen sich auf wasserlösliches Bor und in verdünnter Salzsäure lösliches Mangan. In Abb. 13 sind die Untersuchungsergebnisse in gleichgehalteter Anordnung wie für die übrigen Boden-

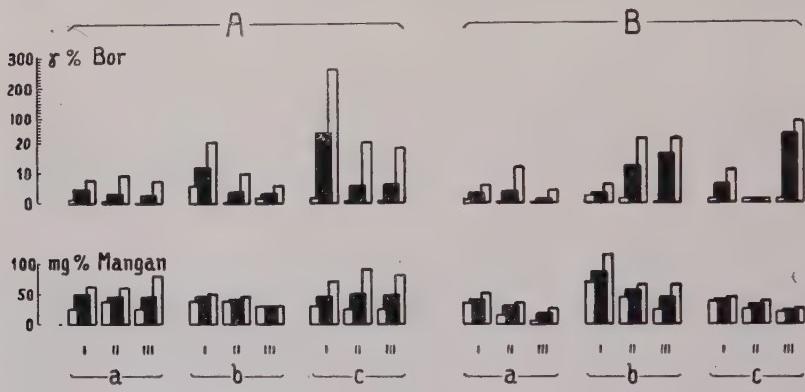


Abb. 13

Gehalt an Bor (wasserlös., obere Reihe) und Mangan (salzsäurelös., untere Reihe) im Boden

bestandteile dargestellt. Der Vergleich der Baumgruppen A/c mit A/a und B/a-c stellt sowohl bei Bor als Mangan die Verhältnisse im Pfeffinger Gebiet eher als günstiger heraus als für die gewählten Vergleichsgebiete. Auch diese Analysenergebnisse vermögen daher keinen positiven Beitrag zur Abklärung der gestellten Frage zu liefern.

Schließlich mußte noch die Frage abgeklärt werden, ob es sich vielleicht um einen Mangel an Zink handeln könnte. Die Symptome des Zinkmangels bestehen in einer ausgesprochenen Kleinblättrigkeit (little leaf). Es ist aus der amerikanischen Literatur bekannt, daß sich der Zinkmangel an verschiedenen Baumarten durch Spritzungen mit Zinksulfat relativ einfach beheben läßt. Daher mußte der Versuch unternommen werden, die Krankheit auf diese einfache Art zu bekämpfen, auch wenn die Aussichten nicht gerade günstig erschienen. In den Jahren 1946 und 1947 führte Herr W. Kaiser an mehreren kranken Bäumen eine späte Winterspritzung mit 6% emulgiertem Obstbaumkarbolineum mit Zusatz von 4% Zinksulfat durch. Zuerst schien sich besonders an einem Baum ein Erfolg dieser Spritzung zu zeigen, allein im nächsten Jahre trat die Krankheit wieder auf, und die im folgenden Jahre durchgeföhrten Zinkspritzungen erwiesen sich als unwirksam.

Wenn aus früheren Bodenuntersuchungen die Schlußfolgerung gezogen wurde, daß auch die Pfeffingerkrankheit wie andere Mangelkrankheiten auf ungenügenden Nährstoffgehalt im Boden, insbesondere an Phosphorsäure teilweise auch Kali und Bor beruhe, so geschah dies, wie bereits eingangs erwähnt, wohl hauptsächlich auf Grund einer Beurteilung der Untersuchungs ergebnisse vor allem der tieferen, noch wurzelführenden Bodenschichten nach den üblichen Grenzzahlen, wie sie für den allgemeinen Feldbau und für die Ackerkrume Gültigkeit haben. Eine Phosphorsäure-Testzahl von 8 und ein Vorrat an leichtlöslichem Kali von 2 mg in 100 g Boden haben sich dort in Überprüfung durch viele Feldversuche mit praktisch befriedigender Zuverlässigkeit als ausreichend für Vollernten erwiesen. Die Benützbarkeit der gleichen Grenzzahlen für den Obstbau und ganz besonders die Stellung der gleichen Anforderungen an die tiefer als 10—20 cm liegenden Bodenschichten bedürften unbedingt einer näheren versuchsmäßigen Nachprüfung. Tatsächlich ist die Erreichung der Grenzzahlen durch Untergrundproben, abgesehen von rigolten Böden, auch unter praktisch als sehr gut zu beurteilenden Verhältnissen in den seltensten Fällen festzustellen. Da jedoch die Durchführung exakter Düngungsversuche im Obstbau unvergleichlich größere praktische Schwierigkeiten bietet als im Acker- oder Futterbau, wird die Lösung dieser methodischen Aufgabe noch einige Zeit auf sich warten lassen und bis dahin sollte von den genannten Grenzzahlen namentlich für tiefere Bodenschichten in Fragen der Obstbaudüngung nur mit entsprechenden Vorbehalten Gebrauch gemacht werden und nach Möglichkeit mehr auf vergleichende Untersuchungen abgestellt werden.

Zusammenfassend sind aus den vorliegenden Ergebnissen der Untersuchungen von Bodenproben aus den Kirschbaugebieten von Pfeffingen und von Eiken, Mumpf und Wallbach, die bodenkundlich vergleichbar sind, in bezug auf das Auftreten der Pfeffingerkrankheit im Baselland festzuhalten:

Die Pfeffinger Böden sind als mittelschwere bis schwere humose Böden mit mittlerem Kalkgehalt und vorwiegend neutraler bis schwach alkalischer Reaktion für den Obstbau weder als besonders günstig noch als außergewöhnlich ungünstig oder gar abnorm zu beurteilen. Ein ursächlicher Zusammenhang der Pfeffingerkrankheit mit den genannten Bodeneigenschaften ist nicht zu erkennen. Die Auffassung der Pfeffingerkrankheit als eine Nährstoffmangelerscheinung kann nach vergleichsweiser Untersuchung diesbezüglich gesunder Kirschbaumbestände nicht als bewiesen und auch nicht als begründet angesehen werden. Wenn dies der Fall wäre, würde diese Krankheit zweifellos eine viel allgemeinere Verbreitung aufweisen.

IV. Übertragungsversuche

Der Verdacht, daß es sich beim Kirschbaumsterben im Baselland um eine Viruskrankheit handeln könnte, drängt sich sofort auf. Dafür sprechen zahlreiche äußere Symptome, die Phloemnekrosen, sowie die Ausbreitung der Krankheit in der Krone und von Baum zu Baum. Wenn man ferner be-

denkt, daß auch die jungen, seinerzeit von Wädenswil bezogenen Bäume trotz zweimaliger Düngung mit PK und Bor heute zum Teil krank sind, erhält diese Annahme eine weitere Stütze. Schließlich geht aus den im vorigen Abschnitt besprochenen Ergebnissen der Bodenuntersuchung deutlich hervor, daß die Pfeffingerkrankheit nicht als eine Mänglerscheinung zu betrachten ist.

1. Übertragung durch Ppropfung

Roos (18) führte in Pfeffingen und in Wädenswil Ppropfungen mit kranken Edelreisern durch, um eine Übertragung auf die gesunde Unterlage nachzuweisen. Die Versuche in Pfeffingen zeigten einen mangelhaften Austrieb der kranken Edelreiser; immerhin erhielt er an vier aufgepropfteten kranken Edelreisern zunächst wieder kranke Blätter. Später dagegen entwickelten sich an diesen Reisern normale Blätter. Als sich ein Jahr nach der Ppropfung keine Übertragung auf die Unterlage zeigte, scheint Roos diese Versuche aufgegeben und nicht mehr weiter beobachtet zu haben. Auch Wurzel-ppropfungen blieben erfolglos. Es muß hier erwähnt werden, daß Übertragungsversuche im stark verseuchten Gebiet von Pfeffingen auch dann nicht beweiskräftig gewesen wären, wenn die Unterlagen krank geworden wären.

Die von Roos in Wädenswil durchgeföhrten Ppropfungen wurden zunächst 2 Jahre im Gewächshaus gehalten und dann ausgepflanzt. Sie gingen nach und nach ein und scheinen überhaupt nicht in erster Linie als Übertragungsversuche durchgeföhrt worden zu sein.

Unsere Versuche wurden in Wädenswil durchgeföhrt, also in einem Gebiet, wo die Pfeffingerkrankheit nicht auftritt.

Versuch I

Am 31. Mai 1944 wurden auf einer 5jährigen, im Wachstum etwas zurückgebliebenen Unterlage (East Malling Typ F $\frac{2}{2}$) durch Herrn Obstbau-techniker W. Bryner fünf kranke Edelreiser aufgepropft. Sie stammten von zwei stark erkrankten Bäumen in Pfeffingen. Im Laufe des Sommers 1944 starben drei Edelreiser ab, die beiden andern bildeten schwache Triebe mit kleinen Blättern. Eine Übertragung auf die Unterlage wurde 1944 nicht beobachtet. Im Winter 1944/45 starb ein weiteres Edelreis ab. Im Frühling und Sommer 1945 wurden auch die Symptome am Edelreis undeutlicher, doch blieben die Blätter immer kleiner als normal. Eine Übertragung auf die Unterlage war auch im zweiten Jahr nicht feststellbar. Erst beim Austrieb im Frühjahr 1946 beobachteten wir auf der Unterlage zahlreiche Blätter mit Ölklecken und asymmetrischer Ausbildung, doch verschwanden diese Symptome im Laufe des Sommers wieder. Im Herbst 1946 waren wohl an einzelnen Zweigen kleine Blätter vorhanden, aber eine Übertragung auf die Unterlage durfte noch nicht mit Sicherheit angenommen werden. Erst beim Austrieb 1947 zeigte sich an der Unterlage die Pfeffingerkrankheit mit allen typischen Symptomen. Der Zuwachs war gering und an mehreren Ästen zeigten sich Absterbeerscheinungen (Abb. 14). 1947 und 1948 hatte der Baum nur noch an einigen Stammausschlägen Blätter von normaler Größe und auch diese

zeigten starke Mißbildungen. Bis zum Auftreten der ersten sicheren Symptome auf der Unterlage dauerte es also in diesem Falle 2 Jahre, und erst nach 3 Jahren zeigte sich die typische Pfeffingerkrankheit.

Versuch II

Ein weiterer Ppropfversuch wurde in größerem Umfange am 11. Oktober 1945 durch Herrn Niklaus durchgeführt. Er umfaßte vierzig Ppropfungen auf die Unterlagentypen East Malling $F^{2/2}$ und $F^{12/1}$. Über die vorläufigen Ergebnisse dieses Versuches haben wir schon früher berichtet (Blumer und Meyer [3]). Die Übertragung der Krankheit auf gesunde Unterlagen gelang eindeutig, und zwar waren hier die Symptome nach $1\frac{1}{2}$ Jahren, nämlich beim Austrieb 1947 sicher nachzuweisen. Allerdings erscheint es nicht ausgeschlossen, daß schon 1946 gewisse, wenig auffällige Primärsymptome auftraten, die aber übersehen wurden. Bis zum Herbst 1948 zeitigte dieser Versuch folgende Ergebnisse:



Abb. 14
Kranker Baum aus Versuch I (2. 5. 1947). Rechts hinten ein gesunder Baum vom gleichen Alter

Aufgepropfte Sorte	Zahl der Versuchspflanzen		Ergebnis		
	kranke Edelreiser	gesunde Edelreiser	Übertragung gesichert	Edelreis abgestorben	Unterlage nicht ausgetrieben
Langstieler	10	5	10	—	—
Schauenburger (Rosmarin) .	12	4	10	—	2
Späte Kracher	8	—	5	2	1
Unbestimmte Sorte	1	—	1	—	—
Total:	31	9	26	2	3

Die Ergebnisse dieses Versuches sind also heute gegenüber unserer vorläufigen Mitteilung noch bedeutend besser gesichert.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Pfeffingerkrankheit durch ein Virus verursacht wird. Die Übertragung vom kranken Edelkreis auf die gesunde Unterlage gelang mit Sicherheit in 26 von 31 Fällen.

Die neun ursprünglich gesunden Edelreiser blieben bis jetzt gesund und zeigten gegenüber den Ppropfungen mit kranken Edelreisern ein viel besseres Wachstum. Die Unterlagen dieser Edelreiser haben bis jetzt in keinem Falle ausgetrieben.

Alle kranken Edelreiser zeigten bis heute die typischen Symptome der Pfeffingerkrankheit. Die Ppropfung und die veränderte Versorgung mit Nährstoffen vermochten kein krankes Edelkreis gesund zu machen. Damit ist eigentlich schon der Beweis erbracht, daß es sich nicht um eine Mangelkrankheit handeln kann.

In zwei Fällen, wo das Edelkreis schon im Winter 1945/46, also vor dem ersten Austrieb abstarb, gelang die Übertragung nicht. Wenn jedoch das Edelkreis erst nach dem ersten Austrieb abstarb, so wurde die Krankheit, wenn auch langsam, auf die Unterlage übertragen. Der Kontakt zwischen Unterlage und Edelkreis muß vermutlich wenigstens bis zum ersten Austrieb vorhanden sein, wenn ein Infektionserfolg eintreten soll.

Die drei Fälle, wo die Unterlagen kranker Reiser nicht austrieben, sagen über den Erfolg der Übertragung nichts aus, da wir nicht wissen, ob diese Unterlagen krank sind.

2. Andere Übertragungsversuche

Schon Roos (18) versuchte die Pfeffingerkrankheit durch Reibung mit kranken Blättern, Injektionen von Preßsaft, sowie durch zahlreiche Insekten zu übertragen, jedoch ohne Erfolg. Wir führten von 1944—1947 ähnliche Versuche durch. Jedes Jahr wurden Blattläuse (besonders *Myzus cerasi*, die schwarze Kirschenblattlaus) von verseuchten Bäumen in Pfeffingen auf gesunde Pflanzen in Wädenswil gebracht. Bis jetzt konnte jedoch die Krankheit durch Blattläuse nicht übertragen werden.

Einige Landwirte von Pfeffingen glaubten von jeher, daß die Krankheit beim Schnitt durch das Werkzeug übertragen werde. Nachdem nun der Nachweis erbracht wurde, daß es sich um eine Viruskrankheit handelt, besteht sicher die Möglichkeit einer solchen Übertragung. Wir führten 1947 einen solchen Versuch durch, doch zeigten sich bis jetzt noch keine Infektionen. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß die Symptome erst 1949 erscheinen.

Zur Prüfung der Frage, ob das Virus durch die Samen oder durch den Boden übertragen werde, legten wir 1947 und 1948 ebenfalls Versuche an. Bis heute haben wir jedoch noch keine Anhaltspunkte, daß eine Übertragung auf diese Weise möglich ist.

Die Eindämmung und Bekämpfung der Pfeffingerkrankheit wäre relativ einfach, wenn die Übertragung nur durch Ppropfung erfolgen könnte. Es ist aber leider mit Sicherheit anzunehmen, daß die Krankheit auch auf andere Weise übertragen werden kann. Anlässlich einer Orientierung der Baumwärter

am 10. Mai 1947 zeigte uns Herr Schmiedlin am Rande eines kleinen Gehölzes bei seiner Liegenschaft Sämlinge mit allen Abstufungen des Befalls (Ölflecken, Kleinblättrigkeit und reduziertes Triebwachstum). Es ist vollständig ausgeschlossen, daß die Krankheit durch Ppropfung oder mit dem Werkzeug auf diese Wildlinge verschleppt wurde. Dagegen besteht die Möglichkeit einer Übertragung von den kaum 50 m weit entfernten Bäumen durch Blattläuse. Wir hielten auch im Walde oberhalb Pfeffingen (westlich der Ruine) Umschau nach kranken Wildlingen, jedoch ohne Erfolg.

Immerhin ist damit die Tatsache sichergestellt, daß es in den Wäldern um Pfeffingen kranke Wildlinge gibt. Sie werden wahrscheinlich an ihren natürlichen Standorten nicht alt werden, da sie wegen des mangelnden Triebwachstums dem Kampf um Nahrung und Licht nicht gewachsen sind. Dagegen besteht die Gefahr, daß kranke Wildlinge, die noch keine Symptome der Krankheit aufweisen, als Unterlagen benutzt werden. Damit würde sich die Krankheit sicher auch auf dem Edelreis ausbreiten. Ob die Pfeffingerkrankheit ursprünglich von den Sämlingen auf die kultivierten Kirschbäume überging, oder ob die Verbreitung in umgekehrter Richtung erfolgte, ist wohl kaum mehr mit Sicherheit festzustellen. Es ist aber wohl denkbar, daß die Krankheit nicht mit Edelreisern aus einer andern Gegend eingeschleppt wurde, sondern daß sie seit langem im Gebiet um Basel auf Wildlingen heimisch war.

V. Das Auftreten der Symptome

1. Inkubationszeit

Es ist bekannt, daß Untersuchungen an Viruskrankheiten von Holzpflanzen sehr langwierig sind, weil die Inkubationszeit unter Umständen sehr lang ist. Bei unserem ersten Versuch (Frühjahrspropfung) dauerte es 2 Jahre, im zweiten Versuch (Herbstpropfung) $1\frac{1}{2}$ Jahre, bis sich auf der Unterlage deutliche Symptome zeigten. Es ist aber in beiden Fällen möglich, daß die ersten Symptome schon früher auftraten, aber nicht erkannt wurden.

Etwas schneller scheint die Übertragung von einer kranken Unterlage auf ein gesundes Edelreis vor sich zu gehen. Auf den stark kranken Baum aus dem ersten Versuche wurden im Herbst 1947 gesunde Edelreiser anderer Sorten aufgepfropft. Bei einer Sorte (Sammetkirsche) zeigten sich die ersten Symptome beim Austrieb im folgenden Frühjahr, während das zweite Edelreis (Sorte Rote Lauber) im folgenden Jahre keine Symptome aufwies.

Herr W. Kaiser in Pfeffingen pflanzte im Frühjahr 1947 zwei verschiedene Sorten auf einen kranken Baum. Schon im Herbst des gleichen Jahres traten an den Edelreisern auffällige Blattdeformationen auf, bei denen es sich wahrscheinlich um die ersten Symptome der Pfeffingerkrankheit handelt.

Die Inkubationszeit zeigt also bei der Pfeffingerkrankheit sehr große Schwankungen von 5 Monaten bis zu 2 Jahren.

2. Das zeitliche Auftreten der Symptome

Im Verbreitungsgebiet der Krankheit finden wir oft am gleichen Baum, ja sogar an einem Zweige die auf S. 301 ff. erwähnten Symptome nebeneinander. Nach unseren Beobachtungen an künstlich infizierten Pflanzen bestehen aber zeitliche Unterschiede im Auftreten der einzelnen Symptome, die allerdings nicht immer deutlich sind:

a) Primärsymptome

Im Frühjahr sichtbar: Gehemmter Austrieb.

Blätter von normaler Größe mit Ölflecken und asymmetrischer Ausbildung der beiden Blatthälften, seltener Kräuselung der Blätter, Hemmung des Triebwachstums.

Im Spätsommer und Herbst: Mosaik und seltener Ringflecken an Blättern von normaler Größe und Form.

Unregelmäßige Mißbildungen an den Blättern.

b) Sekundärsymptome

Starke Häufung der Knospen.

Kleine, schmale Blätter, dick mit scharf gezähntem Rand, auf der Unterseite oft mit dunkelgrünen Aufwölbungen längs den Blattrippen. Nervatur hervortretend, oft hell, Seitenrippen oft unregelmäßig wellig und vor der Abzweigung von der Hauptrippe als getrennte Stränge ein Stück weit nebeneinander verlaufend. Zunehmende Phloemnekrosen, besonders in Blattstielen und in Zweigen. Zunehmende Hemmung des Triebwachstums, die zu einer Häufung der Knospen führt.

Symptome an Fruchtstielen und Früchten (S. 307).

Starke Gummibildung.

c) Unspezifische Folgeerscheinungen

Gummifluß.

Absterben einzelner Zweige oder Äste.

Erhöhte Empfindlichkeit gegen Frost.

Befall durch Borkenkäfer.

Wir wissen nicht, ob diese verschiedenen Symptome einem einzigen Virus zugeschrieben werden müssen, oder ob es sich um einen Komplex handelt, wie ihn Cochran (6) für das Pfirsichmosaik nachgewiesen hat.

Das auffälligste Symptom der Pfeffingerkrankheit, die kleinen, schmalen Blätter, tritt also nach unserer Auffassung erst im zweiten Stadium der Krankheit auf. Damit ist aber nicht gesagt, daß sie immer nach den Ölflecken erscheinen müssen. Bei rascher Ausbreitung der Krankheit erschienen auf den Unterlagen oft Primär- und Sekundärsymptome ungefähr gleichzeitig. In diesen Fällen scheint die Stellung eines Zweiges und seine Versorgung mit Nährstoffen für das Krankheitsbild von entscheidender Bedeutung zu sein. Kleinblättrigkeit tritt nur da auf, wo das Triebwachstum gehemmt ist.

In den Fällen, wo sich die Krankheit auf der Unterlage nur langsam ausbreitete, erschienen die Sekundärsymptome erst ein Jahr später. An den

kleinen „röschen“ Blättern fanden wir nie Primärsymptome (Ölflecken oder Mosaik).

Gelegentlich treten Ölflecken und Kleinblättrigkeit am gleichen Zweige auf. Es können an kranken Zweigen auch noch vereinzelte gesunde Blattbüschel vorhanden sein. In der Regel zeigen alle aus einer Knospe hervorgegangenen Blätter die gleichen Symptome. Seltener ist der Fall, wo aus einer Knospe neben kranken Blättern ein einzelnes gesundes Blatt entsteht.

Die schon von Roos nachgewiesene Phloemnekrose und die starke Gummibildung führen endlich zu den Folgeerscheinungen, die nicht für die Pfeffingerkrankheit typisch sind. Das Absterben ganzer Äste, wie man es in späteren Stadien häufig sieht, ist kaum von der *Valsa*-Zweigdürre zu unterscheiden, wenn man die Symptome an den Blättern außer acht lässt. Die erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Frost beobachteten wir im Winter 1947/48, wo in unserm Versuch zahlreiche kranke Ppropfreiser abstarben oder so stark



Abb. 15

Übertragung auf die Unterlage (Sorte Schauenburger). Links: Krankes Edelreis durch Frost und Borkenkäferbefall abgestorben. Rechts: Austriebe der Unterlage (zum Teil mit Blättern von normaler Größe)

geschädigt wurden, daß sie nachher dem Borkenkäfer zum Opfer fielen (Abb. 15). Die weniger stark erkrankten Unterlagen wurden durch den Frost nicht geschädigt.

Die hier beschriebenen Symptome treten nicht auf allen Kirschensorten gleich stark auf. Mosaik und Ringflecken beobachteten wir zuerst nur an unseren Unterlagen. Erst nachträglich entdeckten wir diese Symptome auch in Pfeffingen, wo sie aber nicht stark in den Vordergrund treten. Bei der Sorte Schauenburger scheint die Aufhellung der Blattrippen etwas auffälliger zu sein als bei den andern Sorten. Wir haben auf die kranken Unterlagen aus Versuch II gesunde Edelreiser der hauptsächlichsten schweizerischen Kirschensorten aufgepfropft. Dieser Versuch soll in erster Linie zeigen, welche Symptome bei den einzelnen Sorten dominieren.

3. Die Ausbreitung der Krankheit innerhalb eines Baumes

Im Verbreitungsgebiet der Pfeffingerkrankheit findet man alle Stadien des Befalls von Bäumen, die erst an einzelnen Ästen Primärsymptome zeigen, bis zu ausgesprochenen Todeskandidaten, die kaum noch ein normales Blatt aufweisen. Wir beabsichtigten in unseren Übertragungsversuchen, die Ausbreitung der Krankheit genau zu verfolgen. Bei den Versuchspflanzen mit normal angewachsenen Ppropfreisern zeigten sich jedoch keine Regelmäßigkeiten in der Ausbreitung des Virus. Im allgemeinen waren die obersten Zweige der Unterlage, die also am nächsten bei der Ppropfstelle entstanden, eher weniger befallen als die unteren Zweige. Diese Erscheinung ist wohl auf die verschiedene Ernährung der Zweige zurückzuführen.

Etwas besser war die Ausbreitung in den Fällen zu verfolgen, wo das kranke Propfreis früher oder später abgestorben war. Hier zeigte es sich, daß sich die Krankheit um so langsamer auf der Unterlage ausbreitete, je früher das Ppropfreis abgestorben war. In einem extremen Fall war das kranke Edelreis schon im ersten Winter nach der Ppropfung (1945/46) abgestorben. Hier zeigten sich die ersten Symptome erst im Frühling 1948 und zwar an einem unteren Zweige.

4. Wirkung äußerer Faktoren auf die Ausbildung der Symptome

Keitt und Moore (10) stellten fest, daß die Symptome des Cherry Yellow-Virus auf Sauerkirschen in ihrem Auftreten und in ihrer Intensität durch die während der Blattentwicklung herrschenden Temperaturen beeinflußt werden. Nach Mills (13) hängt die Variation in der Ausbildung der Symptome bei der gleichen Krankheit von den nach dem Abblühen herrschenden Temperaturen ab.

In Pfeffingen selber tritt die Krankheit nicht jedes Jahr mit gleicher Heftigkeit auf. Es gibt Jahre, wo man im Spätsommer die Symptome kaum mehr beobachtet, während sie in andern Jahren bis zum Herbst auffällig sind. In unserm zweiten Versuch schien es im heißen Sommer 1947, daß die Symptome immer unauffälliger werden. Nach einer ausreichenden Volldüngung

setzte im Spätsommer nochmals ein starkes Triebwachstum ein. Auch an stark kranken Zweigen konnten dicke, bis 50 cm lange Neutriebe beobachtet werden. Die meisten neugebildeten Blätter wiesen mehr oder weniger deutliche Deformationen auf. Oft waren sie im vorderen Teil plötzlich zusammengezogen. Die Blattspitze fehlte oder war nur als schmales Anhängsel angedeutet (Abb. 3). Vielfach entstanden auch monströse und unregelmäßig verkrümmte Blätter. Eine Besichtigung in Pfeffingen zeigte, daß die gleichen Mißbildungen auch dort auftraten, wenn auch weniger häufig.

Im folgenden Jahre fanden wir in unserm Versuche kein einziges Blatt, das derartige Formveränderungen aufwies. Auch in Pfeffingen waren diese Deformationen 1948 sehr selten. Dafür dominierte dort das Mosaik.

Es scheint also, daß die Witterungsverhältnisse, besonders die Temperatur einen starken Einfluß auf die Ausbildung der Pfeffingerkrankheit ausüben. Um den ganzen Komplex der Symptome zu erfassen, muß also die Krankheit mehrere Jahre genau verfolgt werden.

Durch den Einfluß äußerer Faktoren, vermutlich in erster Linie durch hohe Temperaturen, können die Symptome vollständig verschwinden. So zeigten z. B. im heißen Spätsommer 1947 verschiedene Bäumchen im Versuch II keine Anzeichen der Krankheit mehr. Die Blätter waren von normaler Größe, und sogar das Triebwachstum war wieder stärker geworden. Solche Bäume boten einen eigenartigen Anblick: Aus einem kleinblättrigen und stark gestauchten Trieb entwickelte sich plötzlich ein anscheinend gesunder Spättrieb (Abb. 16).

Um zu untersuchen, ob diese scheinbar wieder gesunden Triebe das Virus nicht mehr enthalten, oder ob es sich nur um eine Maskierung der Symptome handle, wurden am 18. September 1947 drei scheinbar gesunde Triebe auf gesunde Unterlagen aufgepfropft. Eines dieser Edelreiser starb nach kurzer Zeit ab. Ein weiteres zeigte im Frühjahr 1948 schon vom



Abb. 16
Maskierung der Symptome. Scheinbar gesunde Spättriebe an einer kranken Pflanze

Austrieb an eine starke Chlorose und eine extreme Kleinblättrigkeit. Am 22. Juni 1948 konnten wir an jungen Blättern der Unterlage ein deutliches Mosaik feststellen. Hier waren also die Symptome im Herbst 1947 maskiert. An diesem Versuch ist bemerkenswert, daß die Inkubationszeit hier nur 9 Monate betrug. Beim dritten Edelreis dieses Versuches erschienen die Verhältnisse weniger klar. Beim Austrieb schien das Ppropfreis krank zu sein, doch verschwanden die Symptome im Laufe des Sommers. Die Unterlage war im Herbst noch gesund.

Es muß ferner festgestellt werden, ob es unter unseren Kirschenarten auch Virusträger (*carriers*) gibt, die das Virus enthalten, aber keine Symptome zeigen. Solche Sorten wären natürlich für die weitere Ausbreitung der Krankheit von besonderer Bedeutung.

5. Identifizierung der Pfeffingerkrankheit mit bekannten Viruskrankheiten am Steinobst

Die ersten genauen Angaben über Viruskrankheiten an Kirschen in Europa stammen wohl von Atanasoff (1) der 1935 aus Bulgarien zwei Typen von Mosaikkrankheiten beschrieb. Nach seiner Beschreibung stimmt keine dieser Krankheiten mit unserer Pfeffingerkrankheit überein.

Dagegen scheint nach einer brieflichen Mitteilung von Dr. Mulder vom 6. Dezember 1946 in Holland eine Krankheit der Kirschen vorzukommen, die mit der Pfeffingerkrankheit sehr viel Ähnlichkeit hat. Dr. Mulder kam übrigens schon damals nach dem Studium der Arbeiten von Roos zur Überzeugung, daß es sich um eine Viruskrankheit handeln müsse. Ob die Virusnatur der holländischen Krankheit seither experimentell bewiesen wurde, ist uns nicht bekannt.

In Nordamerika sind die Viruskrankheiten am Steinobst bedeutend besser bekannt als bei uns. Hildebrand, Berkeley und Cation (7) veröffentlichten 1942 eine Zusammenstellung, aus der die große praktische Bedeutung dieser Krankheiten klar hervorgeht. Es waren damals in USA und Kanada auf Steinobst 56 Viruskrankheiten bekannt, davon 15 auf Süßkirschen! Heute dürften diese Zahlen noch wesentlich höher sein. Es erscheint aber vollständig ausgeschlossen, auf Grund von Beschreibungen und Abbildungen die Pfeffingerkrankheit mit einer dieser amerikanischen Viruskrankheiten zu identifizieren, da die Symptome auf den verschiedenen Sorten sehr stark voneinander abweichen. Dr. S. M. Zeller, Plant Pathologist am Oregon State College, dem ich einige kranke Blätter zustellte, glaubt, daß es sich um die Symptome von zwei verschiedenen Viruskrankheiten handle, die beide auch in Oregon vorkommen.

Eine Identifizierung unserer Pfeffingerkrankheit wäre überaus wertvoll, damit wir die bedeutenden Erfolge amerikanischer Phytopathologen auf diesem Gebiete auf unsern Fall übertragen könnten. Wir werden vorläufig versuchen, in den nächsten Jahren die Symptome auf verschiedenen Kirschenarten näher kennenzulernen.

VI. Ähnliche Krankheiterscheinungen an Süßkirschen

Neben dem Kirschbaumsterben im Baselland sind in der Schweiz an verschiedenen Orten ähnliche Erscheinungen beobachtet worden. In einigen Fällen mag es sich um Viruskrankheiten handeln, doch müßte dies in jedem Falle zuerst durch Übertragungsversuche nachgewiesen werden. Nach Blunck (4) treten „die unter dem Schlagwort ‚Kirschbaumsterben‘ bekannt gewordenen Absterbeerscheinungen“ im Rheinland jedes Jahr auf, und es scheint, daß sie in den letzten Jahren häufiger geworden sind.

Wenn beim Austrieb monströse Blattformen erscheinen, so denkt man in erster Linie an Frostwirkung. Es ist aber zu bedenken, daß sich die Frostschäden vor allem an den Blüten zeigen. Wo diese normal ausgebildet sind, hat man gewisse Bedenken, die an Blättern auftretenden teratologischen Bildungen als Frostwirkung zu bezeichnen. Die in unseren Versuchen im heißen Sommer 1947 aufgetretenen Blattdeformationen erinnern teilweise an Blätter, die durch Frost geschädigt wurden (Abb. 3). Dies ist aber unmöglich, weil diese Blätter an Spättrieben entstanden, die sicher noch nie dem Frost, wohl aber der Hitze ausgesetzt waren.

Es kam besonders im Frühjahr 1948 in verschiedenen Kirschengebieten vor, daß die Bäume zuerst normal austrieten, dann aber trat ein Stillstand in der Entwicklung ein. Die Blätter blieben klein, und nicht selten setzten Austrocknungserscheinungen ein. Man hat diese Erscheinung wohl mit Recht auf die Trockenheit des Vorjahres zurückgeführt. Ein Teil der Wurzeln wurde durch Mangel an Wasser und Nährstoffen geschädigt. Bei den abnorm hohen Temperaturen im Januar 1948 bestand ferner die Möglichkeit, daß die Lebensfunktionen in einzelnen Teilen des Wurzelwerkes vorzeitig einsetzten. Durch die Kältewelle im Februar und vor allem durch die Trockenheit zur Zeit des Austriebes wurden diese Wurzeln stark geschädigt, so daß der Baum zur kritischen Zeit des Austriebes nicht genügend Nachschub vom Boden aus hatte. Die Mängelerscheinungen kamen durch die große Trockenheit zur Zeit des Austriebes noch bedeutend stärker zum Ausdruck. Nachdem die Reserven aufgebraucht waren, mußte ein Stillstand in der Entwicklung eintreten. Es konnten auf diese Weise ähnliche Krankheitsbilder entstehen, wie wir sie zur Zeit des Austriebes an stark viruskranken Bäumen finden.

Dieser „krankhafte Austrieb“ läßt sich aber ohne weiteres von der Pfeffingerkrankheit unterscheiden, wenn man die folgenden Merkmale beachtet:

1. Die Kleinblättrigkeit beim „krankhaften Austrieb“ ist nie mit den besonderen Symptomen der Pfeffingerkrankheit (Ölflecken, verdickte Blätter mit scharfgezähntem Rand) verbunden.
2. Bei einer Viruskrankheit tritt die Kleinblättrigkeit zuerst nur an einem Zweig oder an einem Ast auf und verbreitet sich langsam über den ganzen Baum. Beim „krankhaften Austrieb“ dagegen erscheinen die Symptome plötzlich in einem großen Teil der Krone und oft auch gleichzeitig an verschiedenen Bäumen.

3. Beim „krankhaften Austrieb“ erholt sich der Baum im Laufe des Sommers, oder er stirbt plötzlich ab, wenn die Zufuhr von Wasser und Nährstoffen weiterhin ungenügend ist. Bei den Viruskrankheiten bleiben die Krankheitserscheinungen während des ganzen Sommers, oder es treten andere Folgesymptome auf.

Gelegentlich ist die Kleinblättrigkeit und das Absterben einzelner Zweige auch als Erschöpfungszustand zu betrachten. Durch zweckmäßige Düngung kann hier geholfen werden. Die besonderen Merkmale der Pfeffingerkrankheit treten in solchen Fällen nie auf.

Endlich können an den Blättern von Pflaumen- und Kirschbäumen durch Behandlung mit 2,4-D-Präparaten (Dichlorphenoxy-Essigsäure) experimentell Erscheinungen hervorgerufen werden, die der Pfeffingerkrankheit sehr ähnlich sind (Würgler [21]). Es ist möglich, daß solche Fälle auch in der Praxis gelegentlich auftreten werden. Sie mögen dazu beitragen, daß man in der Verwendung dieser „Hormon“-Unkrautverteilungsmittel etwas mehr Vorsicht und Zurückhaltung walten läßt. Abgesehen von diesen Störungen, die mit Virus vermutlich nichts zu tun haben, gibt es in der Schweiz an Süßkirschen noch andere Krankheiten, für welche die Virusnatur des Erregers sehr wahrscheinlich erscheint.

Die Krankheit von Dollikon (Zürich). An einem Baum („Webers Sämling“) traten vor etwa 3—4 Jahren charakteristische Krankheitserscheinungen auf. Zuerst erschienen an einzelnen Zweigen schmale, dicke, scharfgezähnte Blätter, ähnlich wie bei der Pfeffingerkrankheit, die nicht selten auch die bekannten Wucherungen auf der Unterseite aufwiesen (Abb. 17). Ölklecken oder Mosaik waren bis jetzt nicht festzustellen. Das Triebwachstum wird nicht so stark beeinflußt wie bei der Pfeffingerkrankheit. Die befallenen Teile der Krone sind leicht belaubt. 1947 war etwa $\frac{1}{4}$ der Krone erkrankt, 1948 aber mindestens $\frac{3}{4}$. Dabei war der Ertrag noch als gut zu bezeichnen. In unmittelbarer Nähe sind noch mehrere Bäume der gleichen Sorte, die aber keine Krankheitserscheinungen zeigen.

Der kranke Baum wurde vor etwa 20 Jahren mit der Sorte „Webers Sämling“ umgepfropft. Am Mutterbaum dieser Sorte, der noch heute in Männedorf steht, konnten wir am 26. Mai 1948 keine Symptome der Krankheit feststellen. Es erscheint auch unwahrscheinlich, daß das Virus in der Unterlage vorhanden war. In diesem Falle wäre es wohl kaum 20 Jahre latent geblieben. Das ziemlich rasche Fortschreiten innerhalb der Krone läßt auf eine Spontaninfektion schließen, die vermutlich vor 5—6 Jahren erfolgt sein muß.

Im Herbst 1947 wurden Edelreiser des kranken Baumes auf gesunde Unterlagen gepropft. Die Ppropfreiser zeigten 1948 die gleichen Krankheitserscheinungen, so daß eine Mangelkrankheit ausgeschlossen erscheint. Da aber die Unterlage bis jetzt nicht austrieb, konnte eine Übertragung noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Die gleichen Krankheitserscheinungen wurden 1948 an einem jungen Baum (Sorte Sauerhäner) auf dem Gutsbetrieb Bocken, Horgen, beobachtet.

Die Form der Blätter, sowie die auffälligen Aufwölbungen auf der Blattunterseite erinnern an die von Bodine und Newton (5) beschriebene Rasp Leaf-Krankheit in Colorado, die nach Reeves (15) auch in Britisch Columbien, sowie in den Staaten Washington, Utah, Idaho, Montana und California vorkommt.

Andere Krankheiten. Auf der Langenegg in Küsnacht am Rigi beobachteten wir an einzelnen Ästen verschiedener Bäume und Sorten eine ausgesprochene Kleinblättrigkeit, verbunden mit Blattdeformationen. In der Nähe von Oeschberg kommen an drei jungen Bäumen ähnliche Erscheinungen vor. Ppropfungen ergaben bis jetzt keine schlüssigen Resultate. Endlich ist am Bielersee (Teuffelen) seit Jahren eine Krankheit bekannt, die sich in Kleinblättrigkeit und reduziertem Triebwachstum äußert. Die Krankheitsursache ist hier noch unbekannt.

Auch aus Baumschulen erhielten wir wiederholt Einsendungen, bei denen verschiedene Merkmale für eine Viruskrankheit sprechen.

Es scheint also, daß in der Schweiz die Viruskrankheiten an Süßkirschen hie und da auftreten. Sie wurden aber bisher nicht als solche erkannt. Es wird die Aufgabe der nächsten Jahre sein, diese Krankheiten weiter zu verfolgen und die Ursache sicher festzustellen.

VII. Möglichkeiten der Bekämpfung

Mit dem Nachweis, daß das Kirschbaumsterben im Baselland eine Viruskrankheit ist, die mit der Bodenbeschaffenheit nicht in direktem Zusammenhang steht, schwindet auch die Hoffnung, daß die Krankheit durch Düngung eingedämmt werden könnte. Wir wissen, welche Schwierigkeiten die Bekämpfung der Viruskrankheiten bei den Kartoffeln bereitet. In unserm Falle erscheint eine wirksame Bekämpfung noch viel schwieriger. Bei alten Bäumen breitet sich die Krankheit oft langsam aus und kann jahrelang übersehen werden. Dazu kommt, daß ein Kirschbaum einen viel höheren Wert re-

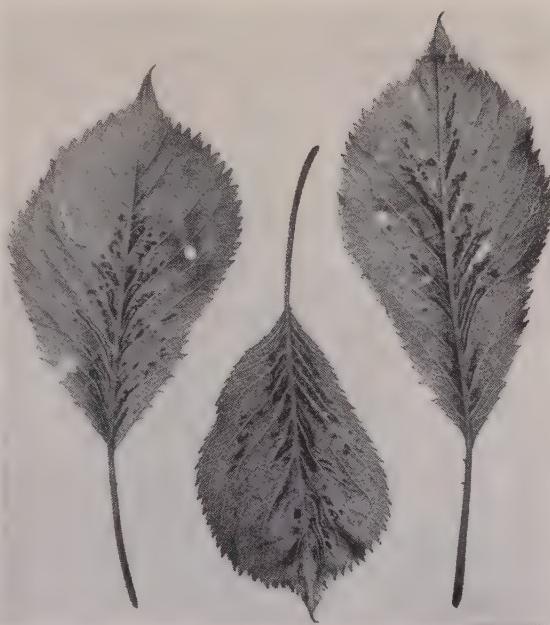


Abb. 17
Viruskrankheit von Dollikon. Kleine Blätter mit dunkelgrünen Aufwölbungen der Epidermis auf der Unterseite. Seitenrippen zum Teil verkrümmt

präsentiert als eine Kartoffelpflanze. Die Entfernung eines kranken Baumes, der noch einige Jahre gute Erträge abwerfen kann, bedeutet für den Besitzer eine starke finanzielle Einbuße.

Die Gefährlichkeit einer Viruskrankheit hängt von ihrer Ausbreitungstendenz ab, die ihrerseits in erster Linie durch die Art der Übertragung bedingt wird. Krankheiten, die durch Insekten übertragen werden, breiten sich natürlich schneller aus als solche, die nur durch die Veredelung verschleppt werden können. Als Beispiel einer Viruskrankheit des Steinobsts, die sich durch eine sehr starke Ausbreitungstendenz auszeichnet, sei hier das Pfirsichmosaik angeführt. Hutchins und Mitarbeiter (9) beobachteten diese Krankheit in einem Bestand von 1149 Bäumen in Colorado zuerst im Jahre 1931 an vereinzelten Bäumen. 1934 waren 75,5 % des Bestandes verseucht und ein Jahr später 97,5 %. Bei einer Viruskrankheit der Sauerkirschen (Yellows) fanden Keitt und Clayton (10) eine mittlere Zunahme von 3 % je Jahr, während Wilkinson und Mitarbeiter (20) für die gleiche Krankheit eine mittlere jährliche Verbreitungsrate von 8,9 % berechneten. Diese Autoren weisen jedoch ausdrücklich darauf hin, daß die Ausbreitungsgeschwindigkeit in einem Baumbestande vom Grade der Verseuchung und von der Lage der infizierten Bäume abhängig sei. Selbstverständlich spielt auch die Häufigkeit der für die Verbreitung in Betracht kommenden Insekten eine wichtige Rolle. Schließlich sei erwähnt, daß es in Amerika Viruskrankheiten am Steinobst gibt, die eine sehr geringe Ausbreitungstendenz zeigen und seit Jahren auf den gleichen Herd beschränkt sind. Es scheint, daß wir in der Krankheit von Dollikon (S. 330) einen ähnlichen Fall haben. Bei der Pfeffingerkrankheit dagegen besteht eine ziemlich starke Ausbreitungstendenz, die besonders an der Peripherie des Hauptherdes in Muttenz und am isolierten Standort in Maur zutage tritt.

In Amerika wurde man durch das bedrohliche Auftreten verschiedener Viruskrankheiten am Steinobst, besonders am Pfirsich zu durchgreifenden Bekämpfungsmaßnahmen gezwungen. Durch das Ausrottungsverfahren und durch strenge Quarantänevorschriften gelang es, den Pfirsichanbau in weiten Gebieten zu retten. Nach Atanasoff (1) hat Bulgarien schon vor 1935 eine Quarantäne und ein Verbot des Verkaufs von Baumschulmaterial und Edelreisern aus verseuchten Gegenden eingeführt. Da auch heute eine direkte Bekämpfung praktisch noch nicht möglich ist, gibt es vorläufig auch für die Pfeffingerkrankheit keine andere Möglichkeit der Bekämpfung.

In erster Linie muß die Verbreitung der Krankheit in ihren Hauptherden und an den isolierten Standorten durch eine genaue Bestandesaufnahme festgestellt werden. Diese muß sich auf zwei Kontrollen stützen, von denen die eine im Mai, die andere im Spätsommer durchgeführt wird. Die Besichtigungen müssen vorläufig alljährlich durchgeführt werden, um auch die Neuinfektionen zu erfassen.

Aus Gebieten, in denen die Krankheit festgestellt wurde, sollten weder Unterlagen noch Edelreiser nach auswärts versandt werden. Die Krankheit

kann auch mit Edelreisern, die von scheinbar gesunden Bäumen stammen, verschleppt werden. Treten in einem Gebiet nur wenige kranke Bäume auf, so sollten diese sofort entfernt werden. In Pfeffingen und Aesch würde diese Maßnahme allerdings eine Dezimierung des Baumbestandes bedeuten, die praktisch kaum durchführbar wäre. Immerhin sollte auch in diesen Hauptherden eine Sanierung angestrebt werden. Es dürfen hier keine Wildlinge aus den benachbarten Wäldern als Unterlagen verwendet werden. Um die noch gesunden Bäume zu erhalten, muß beim Schnitt sorgfältig darauf geachtet werden, daß keine Übertragung durch das Werkzeug erfolgen kann. Ist diese Art der Verbreitung auch noch nicht sicher nachgewiesen, so besteht doch die Möglichkeit, daß die Krankheit auf diese Weise weiter verschleppt werden kann. Messer, Scheren und Sägen sollten deshalb mit Alkohol oder Formalin desinfiziert werden, bevor man die Arbeit an einem Baume beginnt. Auch der Bekämpfung der Blattläuse muß alle Aufmerksamkeit geschenkt werden. Trotzdem die bisherigen Versuche mit Blattläusen ergebnislos verliefen, erscheint diese Art der Übertragung nicht ausgeschlossen. Man könnte sich kaum vorstellen, wie Bäume, an denen überhaupt noch nie geschnitten wurde, plötzlich erkranken.

Durch diese Vorkehrungen wird man jedoch die Hauptherde der Krankheit nie sanieren können. Als vorsorgliche Maßnahme wäre hier die allmähliche Umstellung auf andere Obstarten zu empfehlen. Da aber die Möglichkeit besteht, daß die Krankheit auch auf Zwetschgen und Pflaumen übergeht, käme nur eine Umstellung auf Kernobst in Frage.

Es ist zu hoffen, daß in absehbarer Zeit neue Methoden für die Diagnose und Bekämpfung der Viruskrankheiten an Steinobst entwickelt werden. Horsfall, Stoddard und Dimond (8) erzielten Erfolge durch Behandlung der Knospen mit Oxychinolin-Derivaten, Para-nitrophenol, Chinhydrin und Hydrochinon. Von den behandelten Knospen trieb ein großer Prozentsatz gesund aus, und es fand auch keine Übertragung auf die Unterlage statt. Ferner wurden kranke Knospen auf gesunde Unterlagen okuliert, die Injektionen mit 0,05 % p-aminobenzol-sulfonamid erhalten hatten. Die so behandelten Bäume zeigten keine Symptome, während 85 % der unbehandelten Kontrollen erkrankten. Auch mit verschiedenen andern Chemikalien, z. B. mit Zinksulfat und Oxychinolinsulfat wurden gute Erfolge erzielt, wobei diese Substanzen auch als Gießmittel angewendet werden konnten.

Zusammenfassung

1. Das Kirschbaumsterben im Baselland ist eine Viruskrankheit, die durch Ppropfung übertragbar ist. Da die Krankheit aber auch auf wildwachsenden Kirschbäumen vorkommt, muß es auch noch andere Möglichkeiten der Übertragung geben.
2. Die Krankheit umfaßt einen Komplex von Symptomen. Die einzelnen Symptome werden nach ihrem zeitlichen Auftreten in Primär- und Sekundärsymptome, sowie in unspezifische Folgeerscheinungen gruppiert.

3. Die Symptome können bei guter Ernährung der Pflanzen, sowie bei hohen Sommertemperaturen maskiert sein.
4. Die Krankheit hat ihren Hauptherd in den Gebieten südlich und südöstlich von Basel. In letzter Zeit trat sie auch im Kanton Zürich auf.
5. Das Auftreten der Krankheit steht mit den physikalischen und chemischen Bodenverhältnissen und mit der Düngung in keinem ursächlichen Zusammenhang.
6. Außer der Pfeffingerkrankheit kommen in der Schweiz vermutlich noch einige andere Viruskrankheiten an Süßkirschen vor, die noch näher untersucht werden müssen.
7. Es werden die Möglichkeiten einer Bekämpfung erörtert.

Summary

1. The disease of sweet cherries, known as „Pfeffingerkrankheit“ in the country of Basle, Switzerland is a graft-transmissible virus disease. But other ways of transmission must be taken into consideration, because the disease appears in some cases on wild growing cherry-trees.
2. The disease includes a complex of symptoms. The different symptoms are grouped in primary and secondary symptoms, as well as in unspecific effects, e. g. gummosis and reduced resistance to frost.
3. The symptoms may be masked on good manured plants or by high summer-temperatures.
4. The principal center of the disease lies towards the south and south-east of Basle, and lately the disease appeared too in the canton Zurich.
5. There is no causal connection between the distribution of the disease and the physical and chemical qualities of the soil nor to the manuring.
6. Besides the Pfeffinger-disease other virus diseases on sweet cherries presumably can be found in Switzerland, but they remain to be examined more closely.
7. The possibilities of control are discussed.

Literatur

- 1 Atanasoff, D. Mosaic of Stone fruits. *Phytopath. Zeitschr.* **9**, 259—284, 1935.
- 2 Blotgett, E. C. and Wright, C. M. The Little Cherry Disease Problem in Washington. Wash. State Dept. Agr. Circular Nr. 1, 1948.
- 3 Blumer, S. und Meyer, A. Das Kirschbaumsterben im Baselland. *Schweiz. Zeitschr. f. Obst- und Weinbau* **56** (11), 203—208, 1947.
- 4 Blunk, H. Winterschäden 1941/42 im Rheinland. *Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.*, **54**, 18—36, 1946.
- 5 Bodine, E. W. and Newton, J. H. The Rasp Leaf of Cherry. *Phytopathology* **32**, 333—335, 1942.
- 6 Cochran, L. C. „Complex Concept“ of Peach Mosaic and certain other Stone-Fruit Viruses. *Phytopathology* **34**, 934, 1944.
- 7 Hildebrand, E. M., Berkeley, G. H. and Cation, D. Handbook of Virus Diseases in North America. Michigan Agr. Exp. Sta., East Lansing Mich., May 1942.

- 8 Horsfall, J. G., Stoddard, G. E. and Dimond, A. E. Chemical therapy for plant diseases. *Agric. Chem.* **2**, 28—31, 1947 (Ref. Biol. Abstr. 22: 443, 1948).
- 9 Hutchins, L. M., Bodine, E. W. and Thornberry, H. H. Peach Mosaic, its Identification and Control. — U.S. Departm. of Agr. Circular No. 427, 1937.
- 10 Keitt, G. W. and Clayton, C. N. A destructive Virus disease of sour cherry. *Phytopathology* **33**, 449—468, 1943.
- 11 Keitt, G. W. and Moore, J. D. Masking of leaf symptoms of sour-cherry yellows by temperature effects. *Phytopathology* **33**, 1213—1215, 1943.
- 12 Meier, K. Untersuchung obstbaulich benützter Böden aus Kirschenbaugebieten der Kantone Aargau und Baselland. *Schweiz. Zeitschr. f. Obst- und Weinbau* **52** (16), 423—442, 1943.
- 13 Mills, W. D. Temperatur effects on the expression of the Yellows-Virus in sour cherries. *Phytopathology* **36**, 353—358, 1946.
- 14 Neubauer, E. Versuche nach der Keimpflanzenmethode über den Unterschied der Aufnahmefähigkeit anorganischer und organischer Phosphorformen. *Landw. Vers.-Stat.* **114**, 226, 1933.
- 15 Reeves, E. L. Virus Diseases of Fruit Trees in Washington. Wash. State Dept. of Agric. Bull. No. 1 und 2, 19 pp. March 1943.
- 16 Roos, K. Das Kirschbaumsterben im Baselland. 1. Mitteilung: Die Erscheinungsformen der Krankheit. *Landwirtschaftl. Jahrbuch d. Schweiz* **52**, 596—617, 1938.
- 17 Roos, K. Das Kirschbaumsterben im Baselland. 2. Mitteilung: Die anatomischen Merkmale der Pfeffinger-Kirschbaumkrankheit. *Landwirtschaftl. Jahrbuch d. Schweiz* **53**, 233—258, 1939.
- 18 Roos, K. Das Kirschbaumsterben im Baselland. 3. Mitteilung: Infektionsversuche und Bodenuntersuchungen. *Landwirtschaftl. Jahrbuch d. Schweiz* **60**, 500—520, 1946.
- 19 Wahlen, F. T. und Gisiger, L. Über den Einfluß des Obstbaumbestandes auf Höhe und Qualität des Ertrages von Wiesland und den Nährstoffzustand der Wiesenböden. *Landwirtschaftl. Jahrbuch d. Schweiz* **51**, 274, 1937.
- 20 Willison, R. S., Berkeley, G. H. and Chamberlain, G. C. Yellows and necrotic Ring Spot of Sour Cherries in Ontario. *Phytopathology* **38**, 776—792, 1948.
- 21 Würgler, W. La sensibilité de quelques arbres et arbustes envers les acides phenoxyacétiques. *Rev. Hort. Suisse* **21** (8), 7 pp., 1948.

Masaryk University, Brno; Laboratory of plant physiology

Studies in the pH regulation by the fungous mycelium of *Fusarium scirpi* Lamb. et Fautr.

By

Miloš Pavlík

Introduction

It has been recognized that plant tissue is able to change considerably the acidity of its environment. This is an important ecological factor, enabling plants to regulate the acidity of their natural medium to the optimal value.

The pH-regulation by plant tissue has been the subject of a detailed monographic study by Rypáček 1940. His conception confirms, in general, the regulation theory of Ulehla 1928, which combines two older, oppoing theories, viz., the absorption theory of Robbins and Scott (Robbins 1924, Robbins and Scott 1925, Scott 1926) and the exosmosis theory of Youden and Denny 1926. According to Ulehla, the regulation process is compounded of two phases, the first being called regulation mechanism and consisting in ion absorption from the medium by ampholytic cell proteins, the second (regulation chemism) consisting in ion exosmosis from within the cell into the medium. Both phases of the regulation process tend to change the pH of the medium towards the optimal value which, according to Rypáček, lies near the isoelectric point of the so-called "regulation" protein. For detailed information, the original papers must be referred to.

The regulation process in plant tissue consists, therefore, largely in ion exchange. Other chemical changes in the medium are not involved; let us emphasize before going any further that, first of all, the structure of organic compounds present in the medium is not attacked in any way by the regulation process.

Quite another picture is offered by microorganisms. Their life processes are closely connected with deep changes in the chemical structure of organic compounds contained in the substratum, these compounds being used by the organisms as energetic materials or building stones for protoplasm synthesis. These processes are connected in most cases with considerable pH changes. Besides the isoelectric point of the regulation protein, therefore, further factors influence the value towards which the pH changes are directed, viz., the chemical composition of the substratum and the nature of metabolism of the respective species. In exceptional cases only, the products of metabolism

have no influence upon the acidity of the substratum and all pH changes are due to ion exchange. E. g. *Aspergillus oryzae* oxidizes glucose to kojic acid, which is practically not ionized (Tamiya 1927). An analogous situation is to be supposed in the cultures of lichen fungi as quoted by Ryáček 1938, since the curves representing pH changes in Warén's nutrient solution show nearly the same equilibrium points as do the "ionic" (see below) regulation curves of the respective lichen thalli. In most cases, however, the splitting of the substratum changes its acidity quite considerably¹⁾. Such changes tend to reach an equilibrium point (Verzár, Nábráczky and Szányi 1923) depending upon the chemical composition of the substratum and often differing considerably from the optimal pH value. Sideris 1925 called it the "isometabolic point" of the respective nutrient substance. A nutrient medium having a lower pH value than the value at which the isometabolic point lies is alkalized by the metabolic products of the respective organism; a more alkaline medium is acidified thereby; at the isometabolic point the acidity is changed very slightly, if at all. The location of the isometabolic point on the pH scale depends, first of all, upon the ratio of carbohydrates to proteins: the higher its value, the lower is the pH at which the isometabolic point lies, since most microorganisms produce acids from carbohydrates and basic substances from proteins. In the isometabolic point a dynamic equilibrium exists between the acid and alkaline products of metabolism, so that the reaction remains constant.

Thus it is clear that the pH regulation by fungi and bacteria is a far more complex phenomenon than that by green plants, its mechanism consisting of two quite different and in many cases opposite processes; viz., on one hand, in ion absorption from and ion exosmosis into the medium and, on the other, in chemical changes involved by the metabolism of the respective organism. The first process (henceforth called "ionic" regulation) is connected with the ampholytic nature of the protoplasm and characterized, first of all, by its isoelectric point; the nature of the second one ("metabolic" regulation) is given by the chemical composition of the substratum and by the nature of the enzyme system of the respective organism, the latter two factors being characterized together by the isometabolic point of the given substratum.

These facts suggest many interesting problems concerning the relation between the "ionic" and "metabolic" regulation respectively, especially between their equilibrium points, viz., the isoelectric and the isometabolic point, if and at what rate the "ionic" regulation interferes with the "metabolic" one and whether or not it is influenced by the isometabolic point of the medium. It has been found in higher plants that environment can modify the "ionic" regulation by plant tissue in an analogous manner. Kosłowska 1934 found that plants grown in extremely acid or alkaline soils (with regard to

¹⁾ Literary quotations concerning pH changes in culture media of microorganisms are very numerous; Näslund and Dernby 1923, Sierakowski 1924, v. Mallinckrodt-Haupt 1932, Butkewitsch 1903, 1922 ab, 1925, Tanaka 1933, Nord, Hofstetter and Dammann 1937, Lundegårdh 1923, Sideris 1925, 1929. For older references see the latter two authors and Scott 1926.

the reaction of their usual medium) regulate toward an acidity which is higher or lower than their usual optimum. Martinec 1944 showed that the regulation power of plant tissue is influenced by the regulativity of the soil in which the plant was grown. Therefore it can be supposed in such variable organisms as fungi and bacteria, that the isometabolic point, given by the chemical composition of substratum, can also influence the "ionic" regulation. "The amphoteric nature of the reaction produced during the utilization of different substances . . . suggests, to an analogous degree, the amphoteric nature of the proteins. . . . It is possible to make comparisons of the isoelectric point of proteins and of the "isometabolic" point of substances . . ." (Sideris 1925, l. c. p. 141).

This paper is an attempt to answer the question whether and in what way the "ionic" regulation by the fungous mycelium of *Fusarium scirpi* Lamb. et Fastr. is influenced by the isometabolic point of the nutrient medium.

Materials and methods

Experiments were carried on with a pure culture of *Fusarium scirpi* Lamb. et Fastr.¹⁾ which was isolated from greenhouse soil in December 1946 by the usual plating method. *Fusarium* species generally are very suitable for such experiments as described below. Their ability to change the pH of the medium is considerable (McInnes 1922, Lundegårdh 1923); they grow well and quickly on usual nutrient media, so that they can be easily cultivated. Besides this, they have a considerable economic importance, being widely distributed in soils (Gilmann 1945, Niethammer 1937, 1941), especially in cultivated fields and gardens (Jensen 1931), and often being pathogenic to field crops. Possibly these facts explain why *Fusaria* have often been used as materials for pH regulation studies. The classical work of Robbins and Scott (1924, 1925, 1926) was done — in addition to other materials — with some *Fusarium* species, similar to the fundamental studies of Sideris 1925, 1929 concerning the isometabolic point.

The culture used for the experiment was produced at 23° on the following nutrient medium:

Glucose	10.0 gm
Armour peptone USP	5.0 gm
Monobasic potassium phosphate	1.0 gm
Magnesium sulphate cryst.	0.5 gm
Agar	25.0 gm
Distilled water	1000.0 cc.

For the experiments, nutrient solutions varying in the carbohydrate-protein ratio were used. Mineral salts in these solutions were the same as those used by Sideris 1925. As organic compounds, glucose and Armour

¹⁾ The writer is obliged to Eng. Dr. Vladimír Zacha, Assistant, Institute of Economic Phytopathology, Agricultural College, Brno, for the determination of the fungus.

peptone USP were chosen. The nutrient solutions were prepared by mixing the following fundamental solutions:

A. Mineral solution:

Magnesium sulphate cryst.	6.30 gm
Calcium nitrate cryst.	2.14 gm
Monobasic potassium phosphate	4.08 gm
Ferric chloride, 10 per cent solution	1.5 cc
Distilled water	1500.0 cc

B. Glucose solution:

Glucose	50.0 gm
Distilled water to	500.0 cc.

C. Peptone solution:

Armour peptone USP	50.0 gm
Distilled water to	1000.0 cc.
(peptone dissolved in hot water, the solution boiled for 30 minutes. filtered and made up to 1000 cc.)	

For the composition of nutrient solutions see Table 1. The concentration of glucose is the same in all five solutions; the concentration of peptone varies from 0 to 2 per cent.

Table 1
Composition of nutrient solutions used

Solution	cc A	cc B	cc C	cc H ₂ O	per cent glucose	per cent peptone
(a)	300	60	0	240	1.0	0.0
(b)	300	60	60	180	1.0	0.5
(c)	300	60	120	120	1.0	1.0
(d)	300	60	180	60	1.0	1.5
(e)	300	60	240	0	1.0	2.0

Minute quantities of these solutions were adjusted with normal hydrochloric acid and normal sodium hydroxide to various pH values according to previous electrometric titrations. They were then distributed into 25 cc Erlenmeyer flasks, 15 cc in each, and sterilized three times for half an hour at 80° C. Then, they were inoculated with little bits of 5 days old mycelium and incubated at 23° C for 6 days. This period was found to be most suitable, although for cultures in higher peptone concentrations (solutions [d] and [e]) it was too long, the growth in these concentrations being very abundant so that glucose reserves were thereby exhausted and the value of the isometabolic point found was too high. Nevertheless, this did not affect the significance of the results; on the other hand, in a shorter time the mycelial mats in the solution (a) without peptone would not be developed enough to be used for regulation tests.

After six days, the mycelial mats were drawn out,¹⁾ washed thoroughly with three changes of distilled water (according to Scott 1926 the pH re-

¹⁾ In most acid nutrient solutions (pH 2-3, in [a] pH 4 too) the mats failed to develop enough to be used for the experiments.

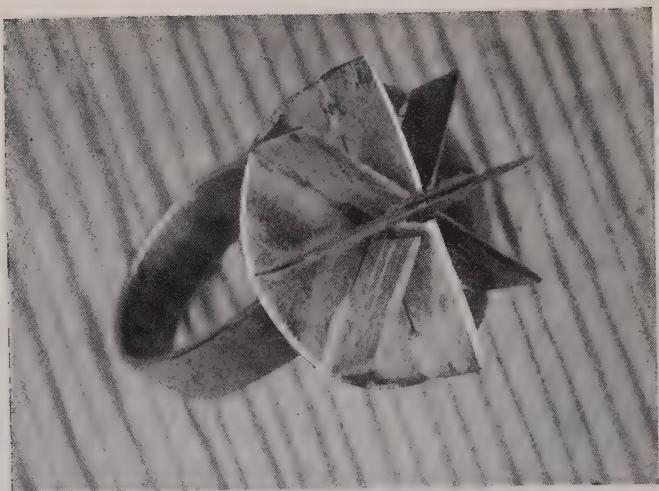


Fig. 1

A photograph showing the nickel cutting instrument used for dividing the mycelial mats of *Fusarium* in 8 equal portions

chloride was added in a quantity corresponding to the 0.1 M concentration of this salt. Each portion of mycelial mat was put into 2 cc of the respective "regulation" solution. After an hour the mycelium portions were drawn out and the pH of the "regulation" solutions was measured. In addition, the acidity of the nutrient solutions in which *Fusarium* was previously grown was measured, and the isometabolic points thereof were established.

For all pH measurements the Veibel quinhydrone electrode was used. All experiments were carried on in an electrically heated dark room, the

Table 2

The pH changes in nutrient solutions (a), (b), (c), (d) and (e) in which *Fusarium scirpi* was grown. pH_I-initial pH of the respective solution; pH_R-pH resulting from 6 days growth of *Fusarium*

Solution (a):	pH _I	2.04	2.78	3.97	5.98	6.17	6.90	7.49	7.84
	pH _R	2.40	2.94	3.30	3.96	4.07	5.16	6.16	6.29
Solution (b):	pH _I	2.10	2.61	3.91	4.94	5.99	6.78	7.38	7.82
	pH _R	2.43	3.39	3.67	4.03	4.63	5.22	6.64	7.13
Solution (c):	pH _I	2.13	2.93	3.93	5.18	6.62	7.24	8.09	
	pH _R	2.42	3.49	4.08	4.68	5.66	5.96	6.75	
Solution (d):	pH _I	2.45	2.73	3.87	4.99	5.85	7.14	7.51	7.63
	pH _R	2.23	3.19	4.24	6.28	6.95	6.31	6.67	6.29
Solution (e):	pH _I	2.25	2.84	3.92	5.01	6.16	6.46	7.17	7.96
	pH _R	2.32	3.23	6.56	7.01	7.20	6.85	6.91	6.90

gulation is not affected by this treatment), divided into 8 equal portions with a specially-designed nickel cutting instrument (see fig. 1) and put in unbuffered solutions adjusted previously to eight differing pH values. These solutions (henceforth called "regulation" solutions) were prepared by a titration of 0.01 N hydrochloric acid with sodium hydroxide of the same normality; to each solution sodium

temperature of which was regulated so that it varied between 20 and 21° C. The room was illuminated with an Edison D 6614 lamp of 60 W and 125 V placed about 1.5 m above the work desk.¹⁾

Results

The results of measurements (mean values of three experiments) are summarized in Tables 2—6 and demonstrated in figs. 2—6. Table 2 and fig. 2 show the pH changes brought about by "metabolic" regulation by the

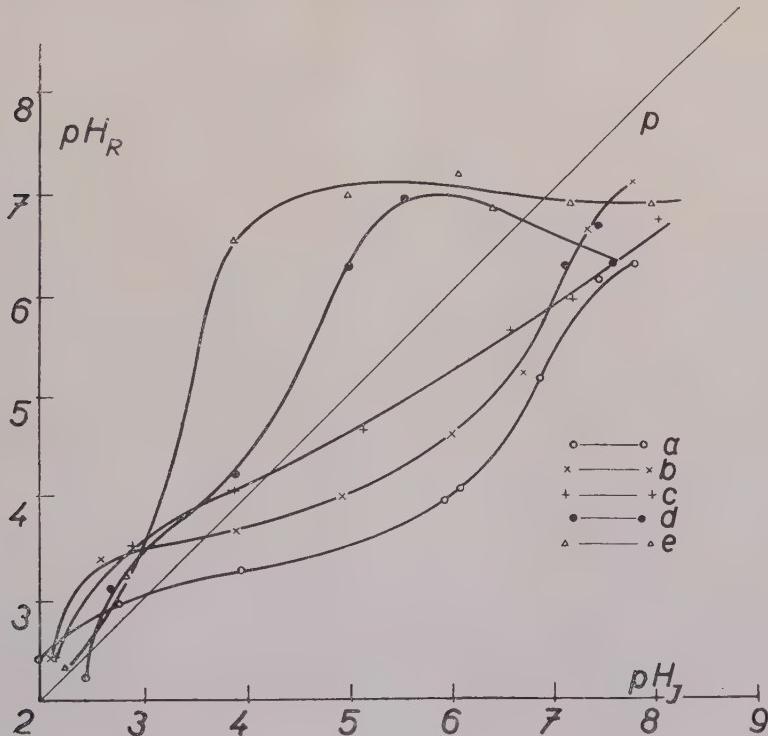


Fig. 2

Graphs showing the pH changes in nutrient solutions (a)—(e), caused by the metabolism of *Fusarium scirpi*. Final acidities (after 6 days growth) are plotted against initial ones. The intersection points of the curves with the auxiliary straight line p give the isometabolic points. Dates are read from table 2

organism in nutrient solutions. Final pH values found after six days cultivation (pH_R) are plotted against initial pH values of the respective nutrient solutions (pH_I). Intersection points of the resulting curves with the auxiliary straight line p (expressed by the equation $\text{pH}_I = \text{pH}_R$) give the isometabolic points; i. e., pH values at which no change in acidity took place. The dependence of the isometabolic point upon the concentration of peptone is shown by Table 3 and fig. 3.

¹⁾ The writer is indebted to his colleagues Dr. Zdeněk Laštůvka, Dr. Milan Dostálек and Dr. Miloslav Staněk, for helpful assistance.

Table 3

The isometabolic point of a solution containing 1 per cent glucose as depending upon the concentration of peptone

Peptone content (%) . . .	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
Isometabolic point (pH) . . .	3.0	3.6	4.2	6.7	7.0

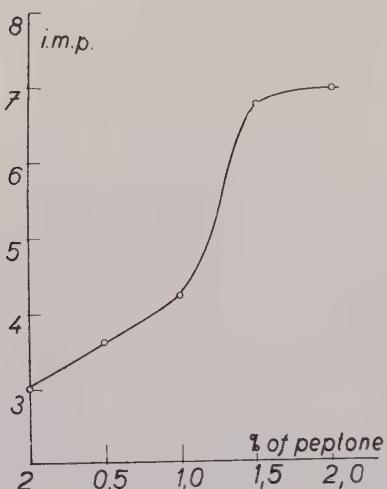


Fig. 3

A graph showing the dependence of the isometabolic points of nutrient solutions containing 1 per cent glucose upon peptone content. The respective isometabolic points are plotted against peptone contents (%). Data are read from table 3

Table 4 and figs. 4a-e show the "ionic" regulation by the mycelial mats grown in nutrient solutions. The pH values found in "regulation" solutions after one hour regulation (pH_r) are plotted against their initial pH values (pH_i). The pH range used enabled only the first ascending parts of the regulation-curves to be established (in many cases not even this was possible), so that the length of the regulation zone could not be determined. Nevertheless, this was not the subject of the present investigations; one could not, after all, compare the regulation zones of mats from different nutrient media, for the colonies differed considerably in shape. It was desirable to determine only the equilibrium points toward which the "ionic" regulation was directed (henceforth "regulation" points). These points are given again by intersections of regulation curves with the auxiliary straight line p ($pH_r = pH_i$). The graphs show that the mycelium grown in the solution (a) regulates toward the same value, whatever the initial

acidity of the nutrient solution might be. Another situation can be observed in the case of mycelia grown in peptone-containing nutrient solutions (b)-(e). There the location of the "regulation" point on the pH scale varies with the initial pH value (pH_i) of the respective nutrient solution. These results are summarized in Table 5 and illustrated in fig. 5, where the "regulation" points are plotted against the respective pH_i values. One can see that the relation between the "regulation" points and the pH_i values is expressed, in the case of solution (a), by a horizontal straight line, $y = 6.6$; in cases (b), (c) and (d) by curves with maximum points at $pH_i = 7.1$, 6.6, and 6.0 respectively; and in case (e) by a nearly smooth descending curve with an intimation of a maximum at $pH_i = 6.1$. The location of the curves in the coordinate system evidently depends upon the concentration of peptone in the respective nutrient solution; the higher the peptone concentration, the higher, in general, the pH value toward which the mycelium regulates. In Table 6, maximal and minimal values of the regulation points of mycelia are compared with the respective peptone concentrations; in fig. 6 a graphic demonstration thereof is given. The relationship is expressed by sigmoid curves similar to that of fig. 3.

Table 4

The pH regulation of unbuffered solutions by the mycelium of *Fusarium scirpi* grown in nutrient solutions (a), (b), (c), (d) and (e), respectively. pH_I-initial pH of the respective nutrient solution; pH_R-initial pH of the "regulation" solution. The figures inside of the table show the pH values of the "regulation" solutions found after one hour regulation by the mycelium of *Fusarium scirpi* (pH_R)

Solution (a):

pH _I	pH _I	5.58	6.17	6.90	7.49	7.84
3.18		3.43	3.34	3.54	3.66	3.68
4.12		4.41	5.02	4.39	5.31	5.11
4.90		5.28	5.77	5.18	6.09	5.99
5.67		5.92	6.20	6.01	6.40	6.32
6.64		6.58	6.62	6.69	6.62	6.57
7.25		6.90	6.90	6.88	6.81	6.60
7.74		7.00	7.21	7.12	6.77	6.92
8.20		7.22	7.52	7.29	6.90	7.19

Solution (b):

pH _I	pH _I	3.91	4.94	5.99	6.78	7.38	7.82
3.10		3.31	3.31	3.47	3.21	3.18	3.39
4.03		4.44	4.70	4.79	4.45	4.22	5.14
5.41		5.71	5.80	6.10	6.14	6.06	6.11
6.38		6.07	6.10	6.28	6.64	6.63	6.43
6.79		6.13	6.12	6.31	6.56	6.64	6.45
7.22		6.09	5.99	6.27	6.80	6.74	6.52
7.81		6.06	5.91	6.22	6.91	6.84	6.44
8.33		5.75	5.95	5.98	6.86	7.09	6.25

Solution (c):

pH _I	pH _I	3.93	5.18	6.62	7.24	8.09
3.27		3.48	3.75	3.86	3.89	3.65
4.45		4.71	5.89	6.20	5.90	5.16
5.75		6.08	6.59	6.59	6.35	6.03
6.50		6.29	6.57	6.83	6.58	6.24
7.15		6.37	6.66	6.81	6.49	6.38
7.40		6.49	6.50	6.85	6.62	6.55
7.81		6.28	6.27	6.81	6.52	6.38
8.34		6.12	6.42	6.86	6.47	6.29

Solution (d):

pH _I	pH _I	3.87	4.99	5.85	7.14	7.51	7.63
3.23		4.30	6.29	6.69	5.34	5.38	6.38
4.32		5.94	6.81	7.25	6.78	6.80	7.16
5.57		6.59	6.90	7.25	6.90	6.93	7.07
6.21		6.72	7.07	7.21	7.11	7.06	7.07
6.86		6.78	6.81	7.30	7.11	7.06	6.99
7.47		6.81	7.07	7.20	7.13	7.03	7.07
7.94		6.64	6.90	7.16	7.16	7.03	7.16
8.25		6.72	6.72	7.16	7.21	6.94	6.99

Solution (e):

pH _I	pH _I	3.92	5.01	6.16	6.46	7.17	7.96
3.46		6.81	6.93	6.72	6.81	6.29	6.36
4.54		7.07	7.21	7.23	7.07	6.72	6.64
5.68		7.10	7.21	7.28	7.18	6.85	7.90
6.10		7.98	7.23	7.34	7.16	6.74	6.94
6.74		7.25	7.22	7.26	7.07	6.97	6.72
7.15		7.26	7.19	7.32	7.07	7.04	6.97
7.53		6.36	7.29	7.23	7.16	6.86	7.07
8.13		7.16	7.27	7.34	7.23	6.76	7.06

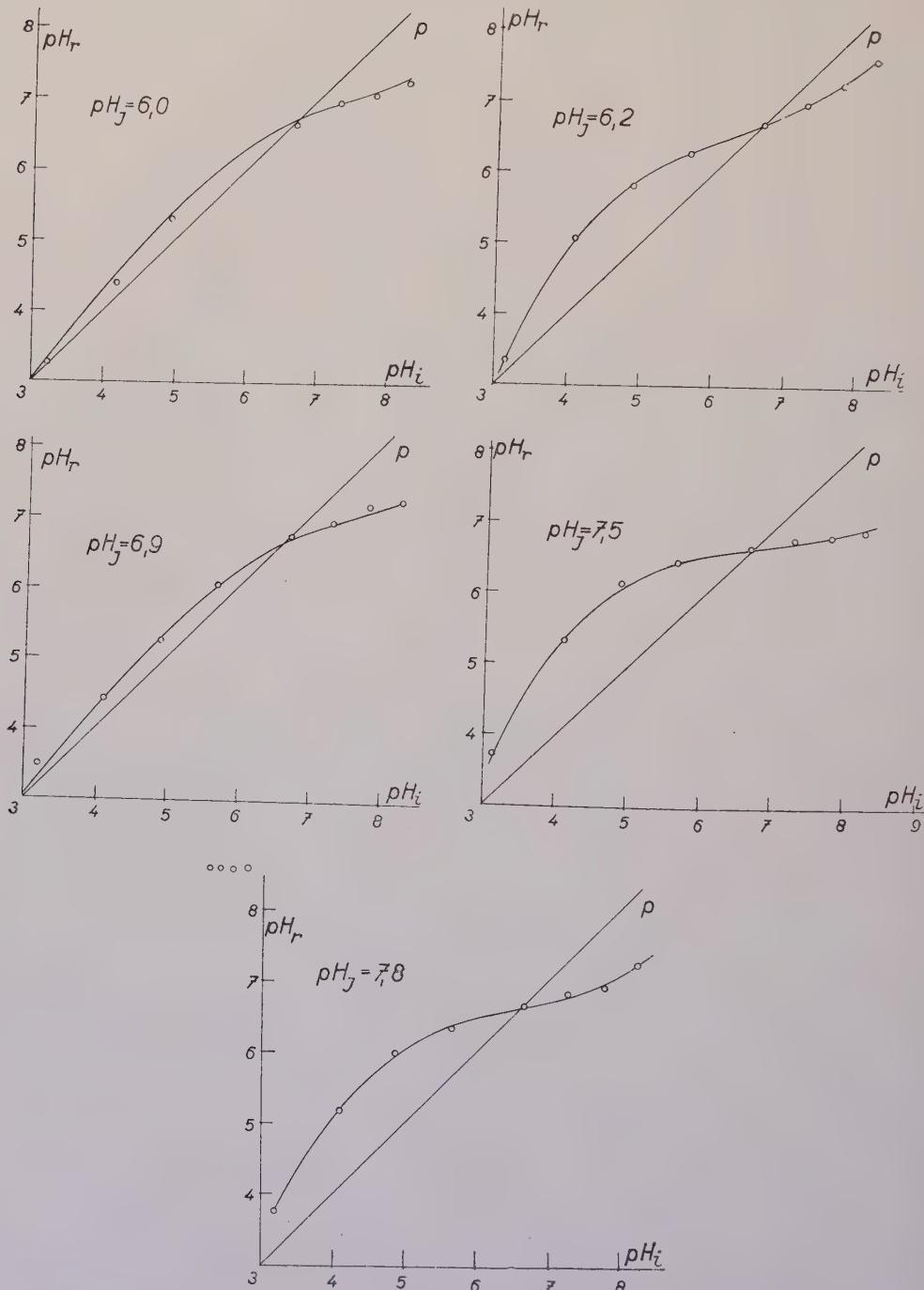


Fig. 4a. Regulation curves of mycelial mats of *Fusarium* grown in nutrient solution (a) adjusted to various pH values (pH_i). The pH values found after one hour regulation (pH_r) are plotted against the initial pH values (pH_i) of the "regulation" solutions. Intersection points with the auxiliary straight lines p give the "regulation" points. Dates are read from table 4

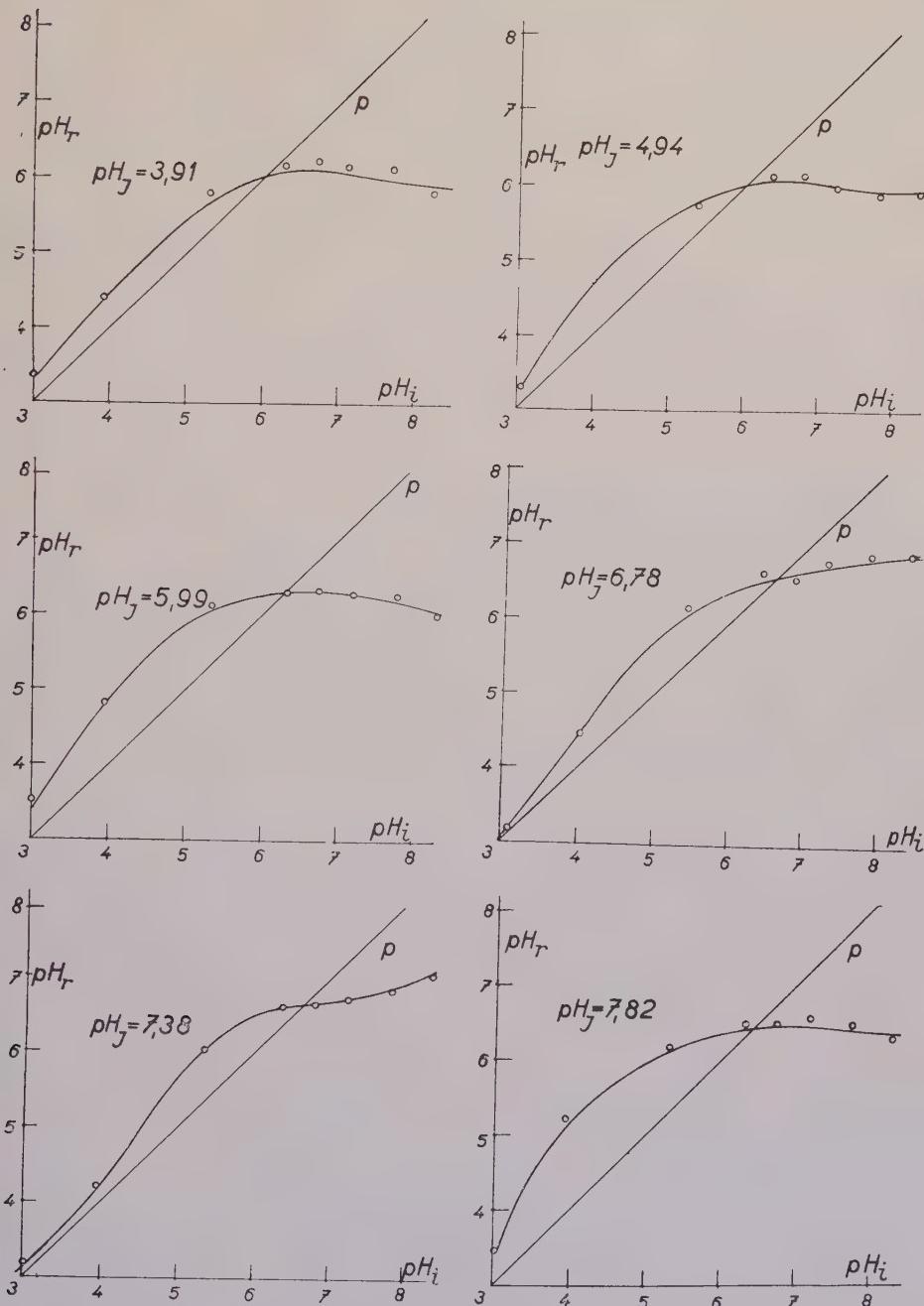


Fig. 4b

Regulation curves of mycelial mats of *Fusarium* grown in nutrient solution (b) adjusted to various pH values. For further explanation see fig. 4a

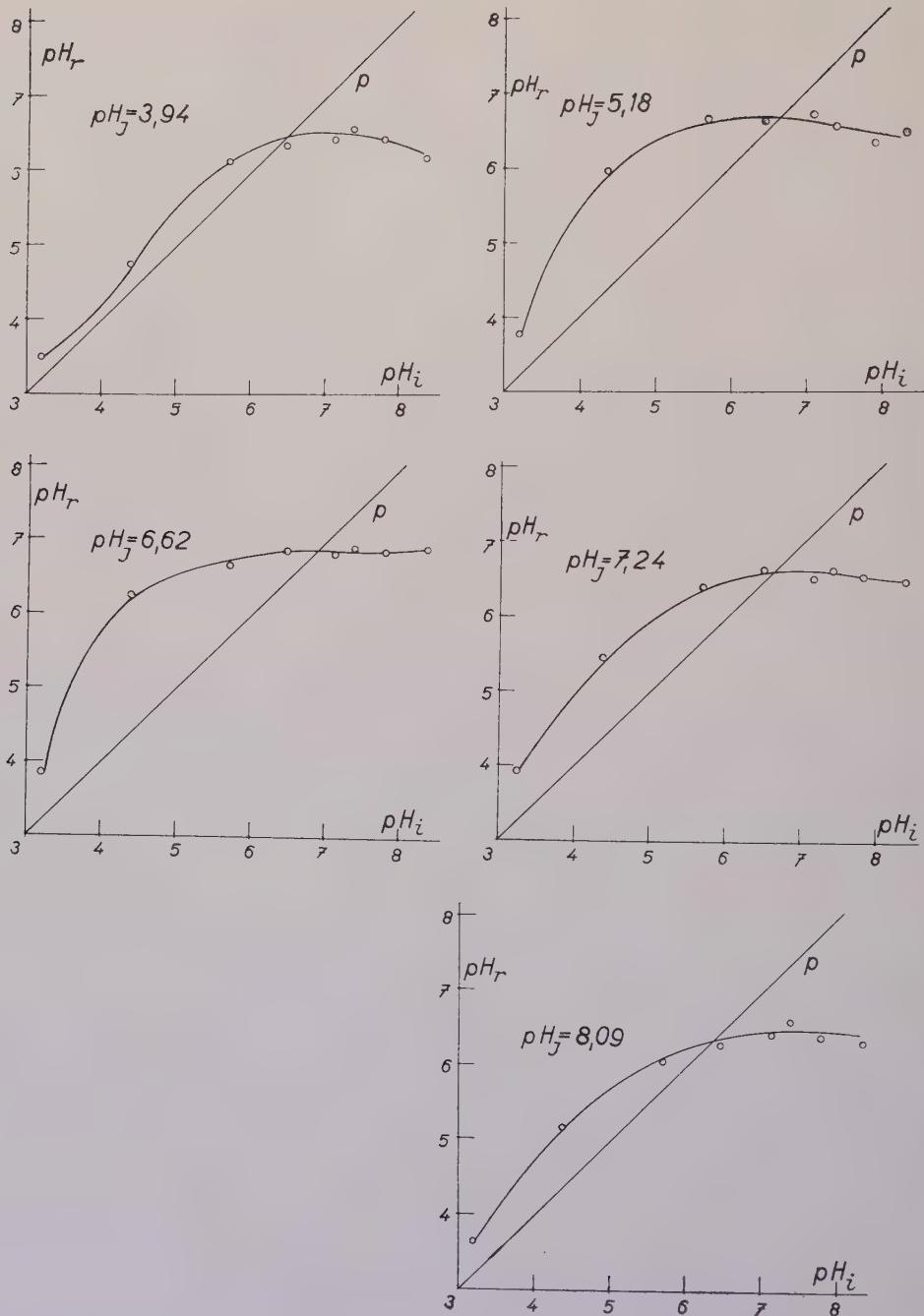


Fig. 4e

Regulation curves of mycelial mats of *Fusarium* grown in nutrient solution (o) adjusted to various pH values. For further explanation see fig. 4a

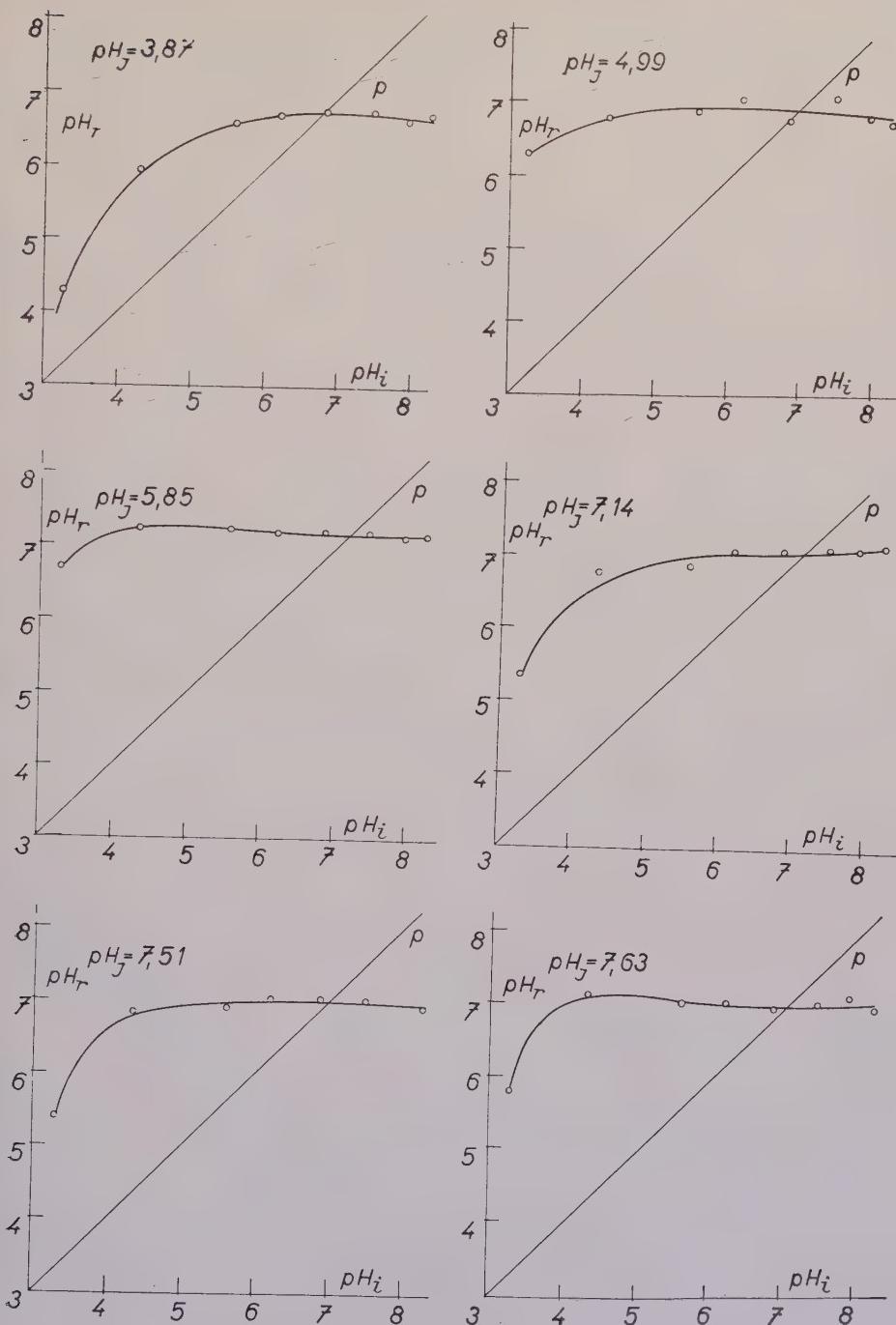


Fig. 4d

Regulation curves of mycelial mats of *Fusarium* grown in nutrient solution (d) adjusted to various pH values. For further explanation see fig. 4a

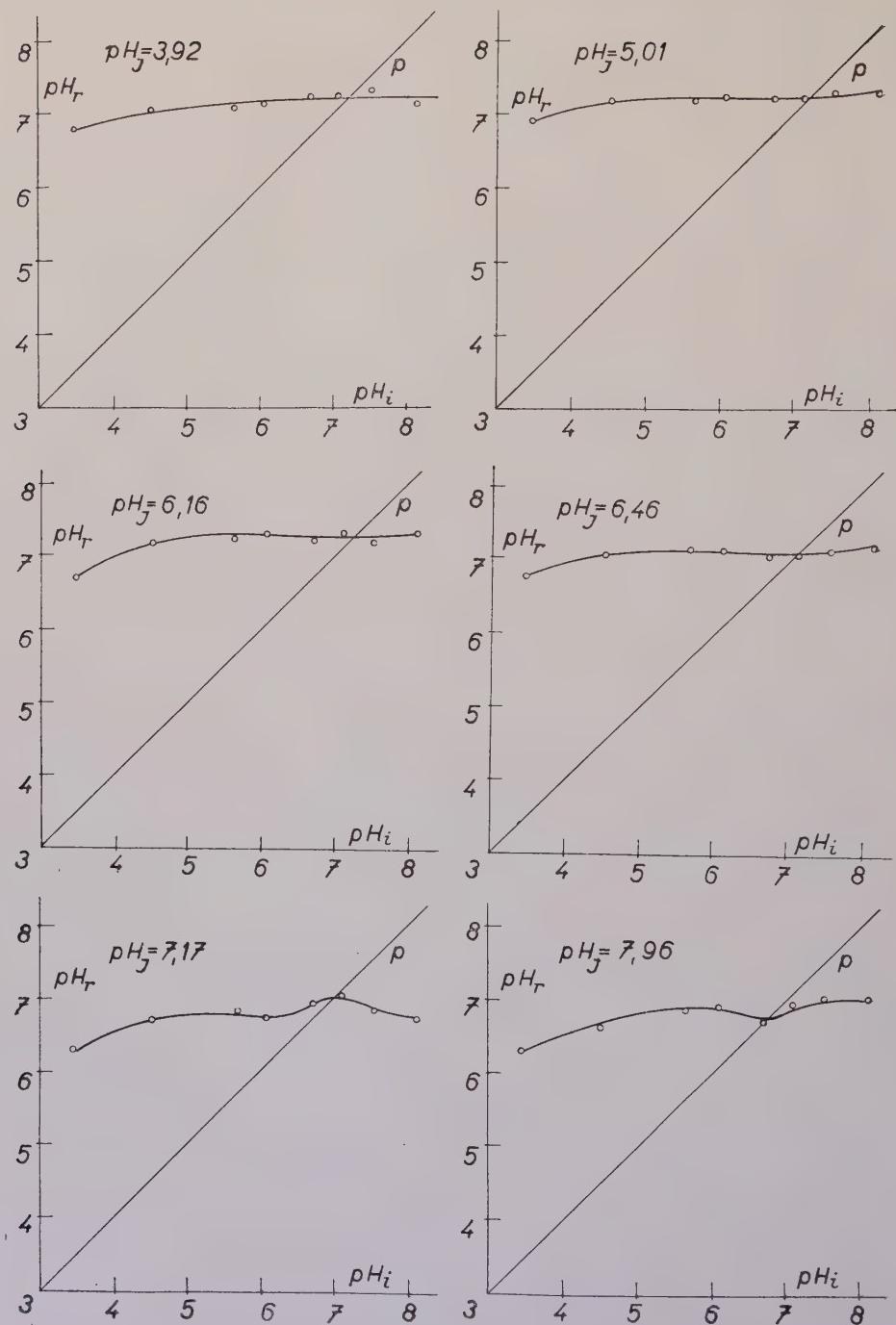


Fig. 4e

Regulation curves of mycelial mats of *Fusarium* grown in nutrient solution (e) adjusted to various pH values. For further explanation see fig. 4a

Table 5

The "regulation" points derived from the graphs 4a—e as depending upon the initial pH value of nutrient solutions (a)—(e)

Solution (a):

pH _I	5.98	6.17	6.10	7.49	7.84
"Regulation" point (pH)	6.6	6.6	6.7	6.6	6.6

Solution (b):

pH _I	3.91	4.94	5.99	6.78	7.38	7.82
"Regulation" point (pH)	5.9	6.0	6.3	6.6	6.6	6.4

Solution (c):

pH _I	3.93	5.18	6.62	7.24	8.06
"Regulation" point (pH)	6.3	6.6	6.8	6.5	6.2

Solution (d):

pH _I	3.87	4.99	5.85	7.14	7.51	7.63
"Regulation" point (pH)	6.7	6.8	7.1	7.0	6.9	6.9

Solution (e):

pH _I	3.92	5.01	6.16	6.46	7.17	4.96
"Regulation" point (pH)	7.2	7.2	7.2	7.1	6.9	6.7

Table 6

Maximal and minimal values of the "regulation" points as depending upon the peptone content in the nutrient medium

Peptone content (%)	0.5	1.0	9.5	2.0
Maximal value	6.6	6.8	7.1	7.2
Minimal value	5.9	6.2	6.7	6.7

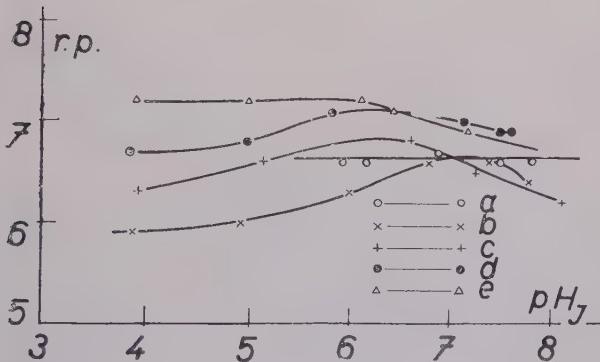


Fig. 5

Graphs showing the dependence of the "regulation" point of a mycelial mat of *Fusarium* as read from graphs 4a—e upon the initial pH value (pH_I) of the nutrient solution in which the respective mycelium was grown. The "regulation" points are plotted against the pH_I values. Dates are read from table 5

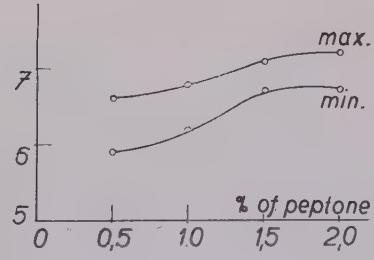


Fig. 6

Graphs showing the dependence of the maximal and minimal values of "regulation" points upon the peptone content of the respective nutrient solutions. The respective values of "regulation" points are plotted against the peptone contents (%)

Discussion of results

Table 2—3 and corresponding graphs confirm the theory of Sideris 1925, proved only with respect to indefinable media (such as nutrient bouillon, various decoctions etc.); viz., that the location of the isometabolic point on the pH scale depends upon the carbohydrate-protein ratio of the respective medium; i. e., the higher the value of this ratio, the higher the acidity at which the isometabolic point lies.

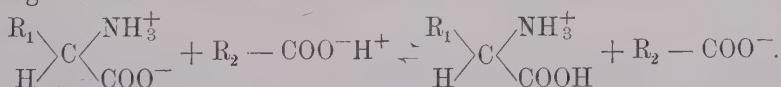
It is well known that microorganisms oxidize sugars to organic acids, this fact having found a wide application in the fermentation industry and diagnostic technique of microbiology. The sugar-containing nutrient solutions are, therefore, acidified by microbial metabolism, supposing that their initial pH value is high enough (see below). The final acidity of a nutrient medium containing a sugar as a single carbon source and energetic material, and a nitrate as a single nitrogen source (such as the solution [a] in the above described experiments) depends upon the dissociation constants and concentrations of the produced acids. The alkalization of strongly acid solutions is explained by experiments of Bach and Desbordes 1933 with *Aspergillus repens*. These autors studied the assimilation of nitrates which are reduced to ammonia by the organism under examination, and found the following facts: if the acidity of the medium is very high, neutral molecules of ammonia diffuse from the slightly acid cell interior into the medium, where they ionize immediately because of its high acidity. The difference between the concentrations of neutral ammonia molecules within and without the cell thus remains high, so that the exosmosis of ammonia is continued, resulting in the alkalization of the medium. Of course, the mycelium under such conditions grows very badly, if at all, since the ammonia produced cannot be used for protein synthesis. In a less acid or neutral medium the dissociation of ammonia is lower, so that the concentrations of neutral ammonia molecules within and without the cell soon become equal, the exosmosis fails to continue, and ammonia accumulating in the cell can be utilized. Thus the rate of ammonia diffusion is proportional to the external acidity; it can be seen, therefore, that the isometabolic points of such nutrient solutions as are now under consideration will lie at low pH values.

The mechanism described by Bach and Desbordes assuredly plays its rôle in the present experiments with the nutrient solution (a); there, the single source of nitrogen is the nitrate ion, as in the experiments of Bach and Desbordes. The isometabolic point lies, according to the supposition, at a low pH value, viz., at $\text{pH} = 3.0$. Therefore, in a nutrient solution containing a sugar as a single carbon and energy source, and a nitrate as a single source of nitrogen, the isometabolic point is an expression of a dynamic equilibrium between the sugar fermentation process and the exosmosis of ammonia brought about by nitrate reduction as depending upon the acidity of the medium. Its location on the pH scale depends upon the nature and quantity of the acids produced; it lies always below (or, perhaps, in exceptional cases at) the pH value within the cell. Since the pH values

of *Fusarium* cells have been found to lie near pH 6.0 (Mahdi Hassan 1930), experimental results accord very well with the theory.

The situation becomes more complex if the nutrient solution contains any other carbon and nitrogen source, such as peptone. This is a far better source of nitrogen than nitrate, but glucose is better for most organisms as a source of carbon and energy. Therefore, in nutrient solutions (b), (c), (d) and (e), both organic compounds are utilized. The products of their breakdown depend upon the actual acidity of the medium. Butkewitsch 1903 found by experiments with *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* and *Mucor sp.* that, in a strongly acid medium, ammonia is produced by peptone breakdown; in moderately acid, neutral or alkaline medium, amino acids (tyrosin and leucin) were demonstrated. Amino acids undergo, by most organisms, further decomposition¹⁾ being, for example, deaminized to organic acids and ammonia (the latter being used for protein synthesis if the external acidity is not too high), or decarboxylized to carbon dioxide and free organic bases; the intensity of the latter process increases, according to Gale's (1940) experiments with *Escherichia coli*, with increasing environmental acidity and sugar concentration (the latter resulting in a more "acid" situation of the isometabolic point). The deamination, on the other hand, is more intensive in a neutral or alkaline medium. These facts show that peptone decomposition results in the formation of basic substances, the concentration and alkalinity of which is proportional to the initial acidity.

Since in nutrient solutions (b), (c), (d) and (e) glucose is also fermented, organic acids accumulate there together with amino acids, amines and ammonia. The nutrient solution contains, therefore, a mixture of basic, acid and ampholytic organic substances. In such a mixture, formation of compounds of organic acids with amino acids can be supposed as stated by v. Przyłęcki and Kasprzyk 1936. According to these authors, diamino acids dissolve in organic acids, forming defined salts, whereas monoamino acids give the following reaction therewith:



The equilibrium depends upon the concentrations and dissociation constants of both partaking compounds. At a low pH the amino acid appears as a cation and gives a salt with the respective organic acid; if the acidity decreases, the salt breaks down and the acid regenerates as an amphiion or a neutral molecule. The stronger the acid, the easier it reacts with the amino acid.

Considering these facts, one can understand that the higher the concentration of peptone in a nutrient solution, the higher is the pH value at which the isometabolic point lies. A high peptone concentration and a low initial pH value result in a high concentration of basic or ampholytic metabolic products and, therefore, according to the figure of v. Przyłęcki and Kasprzyk, in a shift of the equilibrium of the above-quoted reaction

¹⁾ For information about various ways of amino acid breakdown see Lemoigne 1932.

toward the right side. The isometabolic point of nutrient media containing peptone and sugar then can be characterized as an expression of dynamic equilibrium between the products of sugar fermentation and peptone breakdown depending upon the actual reaction of the medium.

It must be noted here that the isometabolic point of a nutrient medium containing both peptone and glucose must be understood not to be a constant quantity, since the carbohydrate-protein ratio of the solution is changed by the metabolism of the growing organism. It has been determined through preliminary experiments that the isometabolic point of nutrient solution (a) remains the same until nearly all glucose contained in the solution is exhausted by the organism; then the nutrient solution is alkalized by the decomposition of organic acids, and, later, by products of autolysis. On the other hand, the carbohydrate-protein ratio of peptone-containing media decreases during the experiment, glucose being consumed more intensively than peptone. This manifests itself as changes of the isometabolic point. Since the growth intensity is proportional to the concentration of peptone, the sooner a complete exhaustion of glucose is induced, resulting in a rapid shift of the isometabolic point towards alkalinity, the higher the concentration of peptone in the nutrient solution. The form of curve 3 suggests that the values of the isometabolic points found for nutrient solutions (d) and (e) do not correspond to the initial glucose-peptone ratios of these solutions, but to a situation induced by a complete or nearly complete exhaustion of glucose. This manifests itself in the form of the curve as a rapid change of its slope between the peptone concentrations 1 and 1.5 per cent.

Table 4 and figs. 4a—e demonstrate the "ionic" regulation by the mycelium when drawn out from the nutrient solutions. It appears that the mycelium from solution (a) regulates always toward the same pH value, viz., toward pH 6.6, whatever the acidity of the nutrient solution may be. It follows from the nature of the "ionic" regulation, as mentioned in the introduction, that the isoelectric point of the regulation protein of *Fusarium scirpi* lies at or near this value. An experiment previous to the present work suggests that this value agrees with the isoelectric point of the protoplasm as a whole: dry weights of the *Fusarium scirpi* mycelium grown in solution (a) at various pH values were found to be as follows:

Initial pH of the solution	2.25	4.45	5.30	5.77	6.92	7.58
Dry weight in mgms	0.6	2.7	6.6	19.3	6.9	10.0

There is a decided minimum of dry matter production near pH 6.6; such a minimum (for a detailed discussion and literature see Buchníček 1940, 1946) corresponds to the isoelectric point of protoplasm. One can assume, therefore, that the isoelectric point of *Fusarium scirpi* protoplasm lies at or near pH 6.6.

On the other hand, the situation of the "regulation" points of mycelia grown in peptone-containing media is somewhat different and depends upon the initial pH of the respective nutrient solution. This is demonstrated in Tables 5—6 and in figs. 5—6. Derived curves in fig. 5, when compared with

the curves demonstrating the pH changes in nutrient solutions (fig. 2), show a certain conformity therewith. It will be seen, for example, that curve 5b at lower pH_1 values ascends quite moderately, at $\text{pH}_1 = 5.6 - 6.5$ more rapidly; on the other hand, curve 5c has a nearly constant slope from the lowest pH value to its maximum point. A comparable difference can be observed between curves 2b and 2c; here it can be explained by a higher buffering power of solution (c) due to its higher peptone content. The form of curves 2d and 2e shows that the buffering power of the respective solutions, although very high, has been overcome by the abundant life activity of the organism so that their slope is, except at lower pH values, very moderate. This manifests itself also in the form of curves 5d and 5e. The respective location of curves 5 in the coordinate system is the same as that of curves 2; maximal and minimal values of the "regulation" points depend upon the peptone content as does the isometabolic point (see Table and fig. No. 5).

Thus it appears that the "regulation" point of the mycelium lies, in general, at a pH value which is in proportion to the respective pH_R ; i. e., the acidity of the respective nutrient solution when *Fusarium* was grown in it. This is to be explained as follows: in peptone-containing nutrient solutions, amino acids and other nitrogenous organic substances accumulate as mentioned above. Peptone itself and most products of its breakdown are highly surface-active substances; e. g., Guggenheim 1940 states that many biogene amines are, when isolated by means of colloidal precipitants, so firmly adsorbed that they cannot be washed out and the analytical work thereby is made difficult. One can, therefore, assume that amino acids and related compounds and their combinations with organic acids brought about by glucose oxidation are firmly adsorbed on cell surfaces, that they remain there even when the mycelium is thoroughly washed with water, take part in the regulation mechanism, and influence the situation of the "regulation" point. Since the respective solution is, in general, the more acid, the lower the initial pH and the pH at which the isometabolic point lies, the position of the "regulation" point is shifted according to a curve, the appearance of which resembles that of the curve expressing the pH changes in the respective nutrient solution. In solution (a), where no amino compounds accumulate (at least, to any degree) no adsorption takes place and the situation of the regulation point appears to be independent of the acidity of the nutrient solution.

There are, on the other hand, some striking differences in the forms of curves 2 and 5 respectively. Curves 2b and 2c are smooth in their course, whereas the corresponding curves in fig. 5 have decided maximum points. It is possible that at higher pH values amino acids having a lower isoelectric point are produced,¹⁾ reacting as acids at the given pH value, and that the equilibrium between amino acids, organic acids and their compounds, as given by the above equation, is shifted towards the left side.

¹⁾ It has been found similarly by Butkewitsch 1925 that *Aspergillus niger* produces another acid from glucose in a strongly acid medium than in a less acid or neutral one.

This equilibrium shift, however, does not manifest itself markedly in the form of the curves in fig. 2; thus it appears that the acidity in close proximity of cell surfaces differs from that of the remaining nutrient medium; this difference is presumably due to different surface activities of the respective nitrogenous products of peptone breakdown. It can be assumed that the concentration of ampholytic compounds having a low isoelectric point and their acid dissociation are proportional to the pH_I value. Because of their high surface activity these compounds are, however, firmly adsorbed on cell surfaces. Thus they exert a marked effect upon the position of the "regulation" point and, therefore, upon the form of the curves in fig. 5, but not upon the reaction of the medium and upon the curves in fig. 2. Only on curve 2b at the highest pH_I value studied, an intimation of an effect analogous to the discussed phenomenon on the curves in fig. 5 seems to appear. The curve 2c shows no trace of such an effect, presumably because of the high buffering power of the nutrient solution due to a peptone content high enough to cause it but not to enable the organism to overcome it within 6 days.

The maximum point observed on curve 5d and an intimation of a maximum on curve 5e are, however, of quite another nature. One must consider that the ascending parts of curves 5b and 5c correspond to the regulation zones and, partly, to the second ascending parts of curves 2b and 2c, respectively. On the other hand, the ascending part of curve 5d and the horizontal part of curve 5e correspond to the first ascending parts of the respective curves in fig. 2, their descending parts to the regulation zones. Curves 5d and 5e show, therefore, a better conformity with curves 2d and 2e respectively than the curves corresponding to solution (b) and (c); this, no doubt, is caused by higher concentrations of surface-active amino compounds and, on the other hand, by a more abundant growth of the organism resulting in a more effective influence upon the properties of the medium.

Conclusions

It can be concluded that the chemical composition of the nutrient medium actually influences the pH value toward which the "ionic" regulation is directed if peptones or related compounds are present in it. Surface activity of nitrogenous metabolic products plays an important rôle in such cases. Peptones or other nitrogenous organic substances are always contained in the soil organic matter (for literary quotations see Waksman 1936), so that analogous relations as discussed above can be supposed under natural conditions in the soil as well as in the living host plant tissue.

The described phenomenon brings an important result in the method. Problems concerning the acidity of the medium and its changes by bacteria and fungi have been hitherto studied by the examination of either the "metabolic" or the "ionic" regulation; in many cases these two quite different processes were not even distinguished properly. The results found lead, however, to the conclusion that both these processes must be examined if a picture of the situation near cell surfaces is to be obtained. The difference

between the pH values near cell surfaces and in the remaining nutrient solution resulting from differences in the surface activity of nitrogenous metabolic products can only be demonstrated by a comparison of both "ionic" and "metabolic" regulation.

Summary

1. The writer points out the difference between the pH regulation by green plant tissue and that by the metabolism of bacteria and fungi, suggesting the terms "ionic" regulation for the process consisting in the regulation mechanism and chemism (Úlehla 1928), and "metabolic" regulation for pH changes brought about by the metabolism of microorganisms. He attempts to find a relation between the "ionic" and "metabolic" pH regulation by the fungous mycelium of *Fusarium scirpi* Lamb. et Fautr., the latter being characterized by the isometabolic point of nutrient medium as suggested by Sideris 1925.
2. An attempt to solve this problem experimentally was made as follows: The fungous mycelium of *Fusarium scirpi* was cultivated in nutrient solutions varying in glucose-peptone ratio and adjusted to different pH values. Then, portions of 6-day-old mycelium were put into unbuffered solutions adjusted to different pH values, and the pH changes due to the "ionic" regulation in these solutions were measured after an hour. Furthermore, the pH changes in the nutrient solutions due to the "metabolic" regulation and the isometabolic points of these solutions were determined.
3. The theory of Sideris is confirmed, that the isometabolic point of a nutrient medium depends upon its carbohydrate-protein ratio; the isometabolic points of the nutrient solutions used were found as follows:

1 per cent, no peptone	pH 3.0
1 per cent glucose, 0.5 per cent peptone	pH 3.6
1 per cent glucose, 1.0 per cent peptone	pH 4.2
1 per cent glucose, 1.5 per cent peptone	pH 6.7
1 per cent glucose, 2.0 per cent peptone	pH 7.0

The latter two values are apparently influenced by glucose exhaustion resulting from the very abundant growth of the organism at higher peptone concentrations.

4. The mycelium grown in a solution containing no peptone regulates "ionically" towards a pH value independent of the initial acidity of the nutrient solution, viz., towards pH 6.6. The isoelectric point of the mycelial protoplasm can, therefore, be considered as lying near this pH value.
5. The "regulation" point (i. e., the pH value toward which the "ionic" regulation is directed) of mycelia grown in peptone-containing media depends upon the initial acidity of the medium according to curves resembling those expressing the pH changes in nutrient solutions. This is explained by an assumption that surface-active amino compounds brought about by the decomposition of peptone are firmly adsorbed on cell surfaces and take part in the regulation mechanism.

6. It is emphasized that the pH value near cell surfaces differs from that of the remaining nutrient solution, this being a result of different surface activity of the respective amino compounds.

Zusammenfassung

**Studien über die pH-Regulation durch das Pilzmyzelium
von *Fusarium scirpi* Lamb. und Fautr.**

1. Der Verfasser macht aufmerksam auf den Unterschied zwischen der pH-Regulation einerseits durch das Pflanzengewebe und anderseits durch den Metabolismus der Bakterien und Pilze. Für den erstgenannten Prozeß wird die Benennung „ionische“ Regulation, für den zweitgenannten die Benennung „metabolische“ Regulation vorgeschlagen. Die „metabolische“ Regulation wird durch den isometabolischen Punkt nach Sideris charakterisiert. Der Verfasser versucht eine Beziehung zwischen der „ionischen“ und „metabolischen“ Regulation durch das Myzelium von *Fusarium scirpi* Lamb. und Fautr. zu finden.
2. Die Versuche wurden in folgender Weise durchgeführt: Der Pilz wurde in Nährösungen von verschiedenem Glukose-Peptonverhältnis kultiviert, die zu verschiedenen pH-Werten angesäuert oder alkalisiert wurden. Stücke von 6 Tage alten Pilzmatten wurden dann in ungepufferte zu verschiedenen pH-Werten adjustierte Lösungen gelegt. Die durch die „ionische“ Regulation verursachten Aziditätsveränderungen wurden nach einer Stunde gemessen. Ferner wurden die pH-Werte der Nährösungen gemessen und somit die durch die „metabolische“ Regulation verursachten Veränderungen bestimmt und der isometabolische Punkt der Nährösungen festgestellt.
3. Es wurde die Voraussetzung von Sideris bestätigt, daß der isometabolische Punkt einer Nährösung von ihrem Kohlenhydrat-Eiweißstoffverhältnis abhängt. Für die benutzten Nährösungen wurden folgende Werte gefunden:

1,0 % Glukose, kein Pepton	pH 3,0
1,0 % Glukose, 0,5 % Pepton	pH 3,6
1,0 % Glukose, 1,0 % Pepton	pH 4,2
1,0 % Glukose, 1,5 % Pepton	pH 6,7
1,0 % Glukose, 2,0 % Pepton	pH 7,0.

Die zwei letztgenannten Werte sind offenbar dadurch beeinflußt, daß bei höherem Peptongehalt der Nährösungen ein üppigeres Wachstum stattfand, so daß während 6 Tagen der Glukosegehalt erschöpft wurde.

4. Die in der Nährösung ohne Pepton kultivierten Pilzmatten regulierten „ionisch“ gegen einen pH-Wert, der von der Ausgangsazidität der Nährösung unabhängig war, nämlich gegen pH 6,6. Es wird gemeint, daß der isoelektrische Punkt des Pilzprotoplasmas in der Nähe dieses Wertes liegt.
5. Der „Regulationspunkt“ (d. h. der pH-Wert, gegen welchen die „ionische“ Regulation zielt) der in peptonhaltigen Nährösungen gewachsenen Pilzmatten ist dagegen von der Ausgangsazidität der Nährösung abhängig.

Die entsprechenden Kurven erinnern an jene, die die pH-Veränderungen in den Nährösungen ausdrücken. Es wird also angenommen, daß oberflächenaktive Aminoverbindungen, die durch die Peptonzersetzung entstehen, an die Zelloberflächen fest adsorbiert werden, am „ionischen“ Regulationsmechanismus teilnehmen und die Lage des Regulationspunktes beeinflussen.

6. Es wird betont, das der pH-Wert in der Nähe von Zelloberflächen von demselben in der übrigen Nährösung verschieden sein kann. Dies kann als ein Ergebnis verschiedener Oberflächenaktivitäten der betreffenden Aminoverbindungen erklärt werden.

Literature cited

- Bach, D. et Desbordes, D. La transformation directe des nitrates en ammoniaque par le mycélium des Champignons inférieurs. C.r. Acad. Sci. (Paris) **197**, 1463—1465, 1933.
- Buchníček, J. Über den Einfluß der Konzentration von Wasserstoff- und Neutralsalzionen auf das Wurzelwachstum. Stud. Bot. Čech. **3**, 1940.
- Buchníček, J. (The influence of hydrogen-ion and salt concentration in the nutrient solution upon the growth of maize roots.) In Czech language with a summary in English. Publ. Fac. Sci. Univ. Masaryk **280**, 1—47, 1946.
- Butkewitsch, W. Umwandlung der Eiweißstoffe durch die niederen Pilze im Zusammenhang mit einigen Bedingungen ihrer Entwicklung. Jb. wiss. Bot. **38**, 147—240, 1903.
- Butkewitsch, W. Über die Bildung der Oxalsäure und des Ammoniaks in den Kulturen von *Aspergillus niger*. Bioch. Ztschr. **129**, 445—454, 1922.
- Butkewitsch, W. Die Ausnutzung des Peptons als Kohlenstoffquelle durch die *Citromyces*-Arten. Bioch. Ztschr. **129**, 455—463, 1922.
- Butkewitsch, W. Die Säuren als Zwischenglied der oxydativen Umwandlung des Zuckers durch die Pilze. Jb. wiss. Bot. **64**, 637—650, 1925.
- Gale, see Guggenheim 1940.
- Gilmann, J. C. Manual of the soil fungi. 392 pp., Ames 1945.
- Guggenheim, M. Die biogenen Amine. 564 pp., Basel-New York 1940.
- Jensen, H. L. The fungus flora of the soil. Soil Sci. **31**, 123—158, 1931.
- Koslowska, A. The influence of plants on the concentration of hydrogen-ions in the medium. Journ. Ecol. **22**, 396—419, 1934.
- Lemoigne, M. Minéralisation des composés azotés dans le sol. Bull. Soc. Chim. Biol. **14**, 1113—1162, 1932.
- Lundegårdh, H. Die Bedeutung des Kohlensäuregehaltes und der Wasserstoffionenkonzentration für die Entstehung der Fusariosen. Bot. Notiser 1923, 25—29.
- Mahdi Hassan, S. Die Wasserstoffionenkonzentration im Zellinnern von *Fusarium lini* B. und Hefe. Bioch. Ztschr. **226**, 203—208, 1930.
- Mallinckrodt-Haupt, A. S. von, Der Wert der pH-Messung bei Pilzkulturen. Zbl. Bakt. I. Orig. **125**, 388—374, 1932.
- Martinec, T. (Wie reguliert das Gewebe der Bohnen [*Vicia faba*], welche in Böden mit verschiedener Dämpfungsfähigkeit gepflanzt wurden?) In Czech language with a summary in German. Sb. Kl. přír. Brno **25**, 31—40, 1944.
- McInnes, J. The growth of the wheat scab organism in relation to hydrogen ion concentration. Phytopath. **12**, 290—294, 1922.
- Näslund, C. und Dernby, K. G. Untersuchungen über einige physiologische Eigenschaften der Strahlenpilze. Bioch. Ztschr. **138**, 497—504, 1923.
- Niethammer, A. Die mikroskopischen Bodenpilze. Haag 1937.
- Niethammer, A. Weitere Beiträge über Verbreitung und Leben mikroskopischer Bodenpilze. Arch. Mikrobiol. **12**, 312—328, 1941.

- Nord, F. F., Hofstetter, H. und Dammann, E. Enzymatische Umsetzungen durch *Fusarium lini* Bolley und *Fusarium oxysporum*. Bioch. Ztschr. **293**, 231—255, 1937.
- Przyłęcki, S. J. von und Kasprzyk, K. Über Verbindungen zwischen Aminosäuren und organischen Säuren, insbesondere Fettsäuren. Bioch. Ztschr. **288**, 29—38, 1936.
- Robbins, W. J. Isoelectric point for the mycelium of fungi. Journ. Gen. Physiol. **6**, 259 bis 271, 1924.
- Robbins, W. J. and Scott, I. T. Further studies on isoelectric points for plant tissue. Journ. Agr. Res. **31**, 385—399, 1925.
- Rypáček, V. (The analogical reactions of the lichens and their fungi upon the acidity of their medium.) In Czech language with a summary in English. Příroda **33**, 72—79, 1938.
- Rypáček, V. Studien über die pH-Regulation durch Pflanzengewebe. Stud. Bot. Čech. **3**, 81—129, 1940.
- Scott, I. T. Some protein analogies of the mycelium of *Fusarium lycopersici*. Univ. Mo. Agr. Expt. Sta. Res. Bull. **92**, 1—44, 1926.
- Sideris, C. P. Studies on the behavior of *Fusarium cromyopthoron* in carbohydrates, glucosides, proteins and various decoctions, with a discussion of the "isometabolic" point of substances. Phytopath. **15**, 129—145, 1925.
- Sideris, C. P. The effect of the H-ion concentration of the culture solution on the behavior of *Fusarium cromyopthoron* and *Allium cepa* and the development of pink-root disease symptoms. Phytopath. **19**, 233—268, 1929.
- Sierakowski, S. Über Veränderungen der H-Ionenkonzentration in den Bakterienkulturen und ihr Entstehungsmechanismus. Bioch. Ztschr. **151**, 15—26, 1924.
- Tamaya, H. Studien über die Stoffwechselphysiologie von *Aspergillus oryzae*. I. Acta Phytochim. **3**, 51—173, 1927.
- Tanaka, K. Zur Physiologie der Essigbakterien. I. Über die Gluconsäuregärung der Essigbakterien. Acta Phytochim. **7**, 265—297, 1933.
- Úlehla, V. Die Regulation der Wasserstoffionenkonzentration durch Sukkulentrengewebe Protoplasma **3**, 469—506, 1928.
- Verzár, F., Nábráczky, J. und Szányi, V. Die Stoffwechselregulation durch Säure bei *Bac. coli comm.* Bioch. Ztschr. **141**, 13—20, 1923.
- Waksman, S. A. Humus; origin, chemical composition, and importance in nature. 494 pp. London 1936.
- Youden, W. J. and Denny, F. E. Factors influencing the pH equilibrium known as the isoelectric point of plant tissue. Am. Journ. Bot. **13**, 1926.

*Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen
Zentralanstalt Braunschweig-Gliesmarode*

Die Spelzenbräune des Weizens

Von

C. Stapp

Er w. F. Smith berichtete im Jahre 1917 (29) über eine Weizenkrankheit im Mittelwesten der Vereinigten Staaten, deren Auftreten er erstmalig bereits 1902 beobachtet und der er später (30) den Namen *black chaff* = Schwarzsipelzigkeit gegeben hatte. Da die charakteristische Verfärbung aber meist mehr von hell- bis tief dunkelbraun variiert, wird die Krankheit zweckmäßigerweise in deutsch besser als „Spelzenbräune“ des Weizens bezeichnet.

Als hervorstechendstes Kennzeichen der Krankheit wird das Auftreten zahlreicher dunkler Längsstreifen auf den Spelzen kurz vor der Reife angegeben, die häufig parallel verlaufen oder auch ineinander übergehen und mehr oder weniger eingesunken sind. Korrespondierend dieser äußeren Streifung treten auf der Innenseite der Spelzen dunkle Flecken auf, die massenhaft Bakterien enthalten. Selbst die Grannen sollen häufig befallen und verfärbt sein. Bemerkenswert ist vor allem, daß auch die Körner infiziert werden; sie zeigen dann an ihrer Basis stärkere Schrumpfungen und manchmal kleine wabenartige Höhlungen, die mit Bakterien angefüllt sind. Die Ähren sind bei stark infizierten Pflanzen vielfach zwergwüchsig. Auf den Blättern treten gelbe, zuweilen transparente Streifen, an den Halmen jedoch braune bis schwarze Streifen auf (31). Bei feuchter Witterung entstehen auf den Oberflächen der Streifen, der Höhlungen und Flecke Exsudate von Bakterienschleim in Form kleiner Tröpfchen, die bei Wetteränderung zu gelblichen Häutchen eingetrocknen. Nach Bamberg (2) erscheinen die Krankheitssymptome z. B. in Minnesota an Weizen erst dann, wenn bereits die Ähren geschoben sind und die Pflanze vor der Reife steht. An Sämlingen sähe man selten eine Infektion.

Als Erreger wurde von Smith, Jones und Reddy (34) ein Stäbchenbakterium beschrieben, das polar begeißelt und Gram-negativ ist, auf Agar wachsgelbe, runde glänzende Kolonien bildet, Gelatine verflüssigt, Milch koaguliert und peptisiert und aus verschiedenen Zuckerarten Säure, aber kein Gas bildet (32, 35). Da es dem Erreger einer Gerstenbakteriose (22), *Pseudomonas translucens*, sehr nahesteht, der aber an Weizen keine oder nur geringfügige Infektionen verursacht, während der Erreger der Spelzenbräune außer für Weizen auch nach künstlicher Infektion für Gerste pathogen ist und andererseits auf Agar wellige statt glatte Kolonien bildet (siehe auch Godkin [13]), erhielt er den Namen *Pseudomonas translucens* var. *undulosa*¹⁾

¹⁾ Nach der neuesten Nomenklatur in USA trägt er jetzt dort die Bezeichnung *Xanthomonas translucens* f. sp. *undulosa* (Smith, Jones et Reddy) Hagborg.

Die Krankheit ist über alle Weizenanbaugebiete des mittleren Westens von Nordamerika verbreitet und E. F. Smith vermutete eine Einschleppung der Bakterien aus Russland (33), was nach späteren Untersuchungen von Jacewski (21) durchaus im Bereich des Möglichen liegt, denn letzterer konnte an Weizenproben verschiedener Provinzen des europäischen Rußland und aus dem Kaukasus dieselbe Krankheit 1925 diagnostizieren, desgleichen aus einer älteren Probe, die aus Sunpan in China stammte. 1926 wurde die Spelzenbräune von Drayton (6) und 1928 von Sanford (28) in Kanada, in etwa der gleichen Zeit von Foëx (10), Millasseau (25) und Hocquette (19) in Mittel-, Süd- und Nordfrankreich, 1929 von Marchal (24, 25) in Belgien, 1932 von McDonald (5) in Kenya, 1936 von Wallace (37) in dem Tanganjika-Gebiet Ostafrikas und 1934 von Churchward (6) in drei verschiedenen Gegenden von Neusüdwales festgestellt.

Spätere Infektionsversuche haben gezeigt (1, 7), daß *Pseud. translucens var. undulosa* sowohl Weizen, Gerste, Roggen und Spelt als auch Hafer, *Hordeum jubatum* und *Bromus inermis* anzugreifen vermag.

Nach Bamberg (1) kann die Pathogenität von Kulturen aus Weizen, die verschiedenster Herkunft sind, beträchtlich variieren. In Gewächshausversuchen an Weizenkeimlingen traten Symptome bereits nach 48 Stunden bei 24°C auf, bei 10°C dauerte es etwa 3 Wochen. Auch im Freiland gelangen ihm Infektionen im Früh- und Spätstadium der Vegetation leicht, nicht dagegen während der mittsommerlichen Hitze. Ebenso berichtet Haggborg (18) über volle Erfolge nach Nadelstichinfektion in die Koleoptilen oder die eben entfalteten Primärblätter. Nach Gorlenko (17) zeigten sich bei in der Reife befindlichen infizierten Pflanzen nach 21—23 Tagen sichere Symptome.

Als Hauptinfektionsquelle wird das bereits infizierte Saatgut angesehen. Körner infizierter Pflanzen erbrachten nach Gorlenko (15) 100% kranke Pflanzen.

Wie bei fast allen Bakteriosen zeigen sich auch hier bei den verschiedenen Weizensorten recht unterschiedliche Anfälligkeit, über die u. a. von Hocquette (20), Prishashnuk (27), Fomin (11), Gorlenko (14, 16), Fröier (12) und Pau (26) berichtet wird. Hocquette weist darauf hin, daß eine Hybride, deren Eltern beide resistent gegen *Pseud. translucens var. undulosa* waren, sich anfällig zeigte und daß, sofern der eine Elter resistent, der andere anfällig war, die Kreuzung einen noch höheren Grad von Anfälligkeit besaß als der letztere Elter.

Eigene Untersuchungen

Im Sommer 1944 erhielt ich durch Herrn Regierungsrat Dr. Straib davon Kenntnis, daß in Süddeutschland seit mehreren Jahren eine Weizenkrankheit auftrate, die dort den Namen Spelzenbräune führe; zugleich wurde ich gebeten, einmal genauer zu untersuchen, ob diese etwa mit der *black chaff*, wie sie in der Literatur beschrieben ist, identisch sei. Da, wie oben dargelegt, die gleiche Bakteriose in Frankreich und Belgien schon aufgetreten sein sollte, schien es immerhin nicht ganz ausgeschlossen, daß diese Getreidekrankheit inzwischen auch nach Deutschland eingeschleppt worden sei. Deshalb schrieb ich im Oktober 1944 an die Bayerische Landessaatzuchtanstalt in Weihenstephan und bat um Überlassung spelzenbräunekranken Materials. Im November erhielt ich dann 2 Bündel mit Weizenähren ohne nähere Angaben, doch wurde später mitgeteilt, daß die Spelzenbräune in Bayern für eine der ernstesten Getreidekrankheiten Deutschlands gehalten werde. Die

Spelzen waren unterschiedlich verfärbt, vielfach mehr im basalen Teil hell- bis dunkelbraun. Manche Körner zeigten zwar stellenweise etwas Schrumpfung, aber keine irgendwie erkennbaren wabenartigen Vertiefungen, in denen Bakterien reichlicher zu finden gewesen wären. Aus verschiedenen basalen Körnerstückchen und auch den Spelzen wurden, nachdem dieselben mehrfach mit destilliertem Wasser abgespült und dann in einem kleinen sterilen Mörser getrennt zerrieben worden waren, Aufschwemmungen hergestellt und diese zur Plattenverdünnung in Bouillon-Agar verwandt.

In 6 Serien entwickelten sich ziemlich reichlich und fast durchweg gelbe Bakterienkolonien, von denen jeweils eine Anzahl auf Schrägröhrchen abgeimpft wurde.

Um die Pathogenität dieser Subkulturen prüfen zu können, wurden im zeitigen Frühjahr 1945 verschiedene Weizensorten in Mitscherlichgefäßern herangezogen und zwar:

1. Peragis Sommerweizen, Hochzucht,
2. Strubes roter Schlanstedter S. W.,
3. Heines Kolbenweizen,
4. Santa Fé
5. Oregonweizen } aus Amerika,
6. ein Sommerweizen ohne nähere Sortenbezeichnung aus Rußland.

Die letzteren 3 Sorten wurden u. a. deshalb gewählt, weil die Spelzenbräune in USA, Kanada und Rußland vorkommt.

Die jungen Pflanzen wurden Anfang April teils durch Aufpinseln mit einem Haarpinsel, teils durch Nadelstiche beimpft. Nach 14 Tagen war noch keinerlei Impferfolg festzustellen.

Durch die Kriegsereignisse gingen sämtliche Bakterienkulturen verloren. Die Infektionsversuche konnten jedoch weiter beobachtet werden. Es trat nach dem Ährenschieben Mehltau auf, der durch Beschwefeln bekämpft wurde, aber irgendwelche auf Spelzenbräune schließenden Blatt-, Spelzen- oder dergl. Symptome waren nicht erkennbar.

Von dem seinerzeit aus Bayern eingesandten Material wurde ein Ährenbündel im Mai 1945 wiedergefunden. Es wurden nun abermals einerseits aus Spelzen, andererseits aus Körnermaterial Bakterienisolierungen vorgenommen, und wieder entwickelten sich ziemlich einheitlich aussehende gelbliche Kolonien auf den Agarplatten. Sowohl von den Spelzenbakterien (= S) als auch von den Körnerbakterien (= K) wurde eine Anzahl Einzelabimpfungen vorgenommen und auf Reinheit geprüft.

Am 1. August 1945 erfolgten erneut Infektionsversuche mit diesen S- und K-Kulturen, die etwa 3—4 Tage alt waren, an jungen Weizenkeimlingen, die am 19. Juli in Mitscherlichgefäßern ausgelegt worden waren. Es handelte sich dabei um dieselben 6 Weizensorten wie früher. Die Infektionen erfolgten ähnlich denen der Rostübertragungen. Außerdem wurden daneben auch noch Nadelstichinfektionen an den gleichen Sorten durchgeführt.

Da ein Infektionserfolg bis Ende August nicht festgestellt werden konnte, wurden am 31. August die Impfungen an den gleichen Pflanzen wiederholt. Auftretender Mehltau wurde wieder mittels Schwefelpulver bekämpft. Bis zur Abreife waren die oben beschriebenen Krankheitserscheinungen an den Spelzen der Ähren nicht feststellbar, und auch an den Blättern und Halmen ließen sich, solange sie grün waren, keine Anzeichen von Bakterieninfektion erkennen.

Deshalb wurden im April 1946 nochmals Bakterienisolierungen aus dem alten Weizenmaterial durchgeführt. Am 17. Juni erfolgte das Auslegen scheinbar kranker Körner aus dem übersandten Material teils mit, teils ohne Spelzen in Töpfen im Gewächshaus und am 19. Juni in der gleichen Weise das von Körnern 3 gesunder Weizensorten zum Vergleich und zwar von „Pelon“, „Heines Kolben“ und „v. Rümkers früher Sommer-Dickkopf“. Desgleichen waren an diesem Tage die aufgeführten gesunden und mehrere Reihen angeblich spelzenbräune kranker Weizenkörner (wobei auch jeweils sämtliche Körner einer Ähre Verwendung fanden) im Freiland ausgesät worden.

Am 15. und 16. Juli 1946 wurden von den aus angeblich kranken Samen entstandenen Pflanzen im Freiland und Gewächshaus, obwohl Symptome nicht zu erkennen waren, Stengel- und Blattstücke entnommen und nach üblicher aseptischer Vorbehandlung zu Isolierungen des etwaigen Spelzenbräune-Erregers verwandt. Es entwickelten sich trotz günstiger Bedingungen nur auf der ersten Platte einige Kolonien verschiedenem Aussehens.

Am 16. Juli wurden die Gewächshauspflanzen aus den gesunden Samen der drei oben genannten Sorten künstlich infiziert und zwar wurden, aus Presssaft der gesunden Sorten mit etwas steriles Wasser verdünnt, jeweils Aufschwemmungen mit den Reinkulturen der Bakterienisolierungen hergestellt und diese konzentrierten Aufschwemmungen wie früher angegeben zur Infektion verwandt. Am 17. Juli erfolgte die künstliche Infektion an Freilandpflanzen in derselben Weise.

Am 31. Juli und 9. August erfolgten auch die Entnahmen von Stengel- und Blattstücken aus angeblich kranken Samen gezogener Pflanzen des Freilandversuches zur Reisolierung; die Ergebnisse waren wie die vom 15. und 16. Juli völlig negativ.

Der Gewächshaus- und Freilandversuch vom 17. und 19. Juni wurde am 5. November wiederum mit negativem Ergebnis abgebrochen.

Im Herbst 1946 waren erneut Körner von angeblich kranken Ähren ins Freiland ausgelegt worden. Im Juli 1947 wurden den Pflanzen einige Blätter entnommen, die streifige Verfärbungen erkennen ließen. Es handelte sich zum mindesten teilweise dabei um Rostbefall. Versuche, aus diesen Blättern auch einen bakteriellen Parasiten zu isolieren, schlugen fehl; dagegen zeigten Versuche mit Spelzen von angeblich krankem Weizen, dessen Körner im Januar im Freiland ausgelegt waren, wieder, daß gelbe Kolonien sich jeweils auf den Platten der einzelnen Serien verhältnismäßig zahlreich entwickelten. Diese Tatsache bewog mich, nunmehr einmal Spelzen von gesundem Weizen des hiesigen Sortiments zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden u. a. „Michigan Amber“ mit gebräunten Spelzen und „Hessische Landsorte“ mit hellen Spelzen ausgesucht und die Bakterienflora dieser Sorten geprüft. Dies geschah gleichzeitig mit im September 1947 neu eingetroffenem angeblich kranken Weizen ohne Sortenbezeichnung aus Weihenstephan. Überraschenderweise entwickelte sich aus den Spelzenstückchen der hiesigen gesunden Weizensorten etwa die gleiche Anzahl gelber Bakterienkolonien auf den Platten wie aus denen des angeblich kranken Weizens!

Um Abimpfungen dieser anscheinend gleichen Bakterien auf ihre Pathogenität zu prüfen, wurden Körner von 2 Sorten mit braunen Spelzen („Red wave“ und „Michigan Amber“) und von 3 Sorten mit hellen Spelzen („Weißer flandrischer“, „Köhlers weißer Epp“ und „Hercules white“) im Gewächshaus am 12. September ausgelegt und die jungen Keimpflanzen jeweils sowohl mit Bakterienstämmen aus gesundem als auch krankem Weizen am 21. September

infiziert. Bis 18. Oktober waren keinerlei Krankheitssymptome erkennbar. Am gleichen Tage erfolgte die Verpfanzung aller 5 Sorten ins Freiland.

Von dem weißährigen Winterweizen „Hildebrand“ wurden am 6. Dezember Körner in feuchtes Sägemehl gebracht und zum Keimen bei 28°C aufgestellt. Die jungen Keimpflänzchen wurden am 11. Dezember herausgenommen, die Blättchen durch feine Nadelstiche mehrfach verletzt und dann die Pflänzchen 2 Stunden in eine Bakteriensuspension getaucht nach dem Verfahren, das zur Erzielung fettfleckenträger Bohnen von mir früher angewandt wurde (36). Auch das Pflanzen in Töpfe nach dem Tauchen erfolgte in gleicher Weise wie dort beschrieben, jedoch wurden dann diese infizierten Getreidepflanzen am 22. Dezember ins Freiland verpflanzt, nachdem sie alle gut aufgelaufen waren. Bis August 1948 blieb der Weizen unter Beobachtung. Symptome von Spelzenbräune an Blättern und Ähren traten nicht auf. Am 31. Juli 1948 ging nochmals spelzenbräunekrankes Weizenmaterial aus Weihenstephan ein. Es handelte sich um Ähren der Sorten „Deck Nr. 9“, „Mauerner Dickkopf“ und „Marquardts II“. Noch einmal wurden Spelzen- und Körnerstückchen zur Isolierung des bakteriellen Erregers ausgewählt und am 28. August wiederum Körner der oben angegebenen 5 gesunden Weizensorten in Töpfen im Gewächshaus ausgelegt. Die neu gewonnenen gelben Stämme wurden am 7. September zur Infektion für diese Weizenpflänzchen verwendet und das infizierte Material wie auch früher zunächst 24 Stunden in einer großen feuchten Kammer aufbewahrt. Da am 13. September noch keinerlei Symptome zu erkennen waren, wurden 2 weitere Weizensorten, nämlich „Ackermanns Bayernkönig“ und „Ackermanns lange Kronen“, die am 3. September ausgelegt waren, auf die gleiche Weise infiziert.

Von den am 7. September mit einer Bakterien-Rohauschwemming, an Stelle von Reinkulturen, geimpften Weizenpflanzen erfolgten am 29. September Reisolierungsversuche der Bakterien. Dazu wurden frischgrüne Blattstücke nach kurzem Abwaschen verwendet. Es entwickelten sich auf den Platten tatsächlich wieder einheitlich gelbe, durchscheinende Bakterienkolonien. Zur Kontrolle waren entsprechende Stücke von gesunden, nicht infizierten Weizenpflänzchen als Ausgangsmaterial verwendet worden, und auf den entsprechenden Platten entstanden die äußerlich völlig gleich erscheinenden gelben Kolonien!

Dadurch war es außerordentlich fraglich geworden, ob es sich bei diesen gelben Bakterien überhaupt um pathogene Mikroorganismen handeln würde bzw. ob diese etwa mit *Pseud. translucens var. undulosa* identisch seien. Am 8. Dezember 1948 mußte der Infektionsversuch wiederum mit völlig negativem Ergebnis abgebrochen werden.

Von den zuletzt eingesandten angeblich kranken 6 Weizensorten wurden am 14. Oktober 1948 jeweils zahlreiche Körner im Freiland ausgesät. Es waren die Sorten:

- | | |
|--------------------------------|----------------------|
| 1. Heines II, | 4. Marquardt's II, |
| 2. [99] Peragis 28 465 — 3327, | 5. Dernburger Silber |
| 3. Mauerner Dickkopf, | 6. Deck Nr. 9. |

Es sei vorweg gesagt, daß auch diese aus den Samen gewachsenen kräftigen Pflanzen bis heute noch keinerlei Anzeichen einer wirklichen Erkrankung aufweisen.

Inzwischen war eine Reihe von Bakterienkulturen ausgewählt worden, die in ihrem Verhalten auf verschiedenen Nährsubstraten, auf ihre morphologischen, physiologischen und biophysikalischen Eigenschaften geprüft worden waren. Mit dem in der Literatur beschriebenen Erreger *Pseud. translucens var. undulosa* stimmten sie insofern überein, als es sich bei allen um schlanke, polar begeißelte, nicht sporenbildende, Gram-negative Bakterien handelte, die aus den verschiedensten Zuckerarten kein Gas, wohl aber aus einzelnen, wenn auch hier etwas unterschiedlich, Säure bildeten; ferner verflüssigten sie die Gelatine, koagulierten und peptisierten die Milch, besaßen keine diastatische Wirkung, reduzierten nicht Nitrat und wuchsen nicht in Fermi-Lösung. Die relativ geringen Unterschiede bestanden darin, daß die glatten und auch glattrandigen gelben Kolonien auf Bouillon-Agar niemals eine innere Zeichnung aufwiesen, sondern bei Lupenbetrachtung völlig homogen erschienen und in Cohns Lösung Wachstum zeigten. Bedeutungsvoller war schon, daß sie nicht mit allen Zuckerarten Säure bildeten, mit denen *Pseud. translucens var. undulosa* dies tat. Jedenfalls war danach eine vollständige Übereinstimmung mit dem beschriebenen Erreger der Spelzenbräune nicht vorhanden.

In der Literatur finden sich aber auch Angaben über Symptome an Weizen, die leicht mit denen von *black chaff* verwechselt werden können. So sollen nach Broadfoot und Robertson (3) Verfärbungen an gewissen Weizensorten alljährlich auftreten, die *black chaff* ähnlich und fast immer an Spelzen und Spindeln zu finden seien, besonders an Teilen, die dem Licht ausgesetzt sind. Histologische und kulturelle Untersuchungen sollen ergeben haben, daß dieselben nicht auf die Aktivität eines parasitischen Mikroorganismus zurückzuführen sind, sondern daß solche Weizensorten noch Farbfaktoren in sich tragen, die unter günstigen Lichtverhältnissen Pigmentareale bilden.

Nach Mc Fadden (10, 11) sollen auch Weizenstämme, die z. B. eine bestimmte Resistenz gegen *Puccinia graminis tritici* besitzen, auf Infektion mit dem Rost durch Entstehen von dunkelgefärbten Streifen oder Flecken reagieren, die denen von *black chaff* durchaus ähneln.

Ob bei dem in Süddeutschland gebauten Weizen diese oder andere nichtparasitäre Ursachen vorliegen, kann von hier aus nicht entschieden werden. Hier in Braunschweig traten derartige Symptome an den geprüften Weizensorten nicht auf. Andererseits ist von Dr. Sprau, München, in „spelzenbräunekrankem“ Weizen gelegentlich ein Pilz nachgewiesen worden, und zwar zur Gattung *Macrophoma* gehörig. Bei unseren Isolierungsversuchen aus Körnern und Spelzen ist derselbe allerdings nie festgestellt worden, und es ist auch kaum anzunehmen, daß er die Ursache dieser „Spelzenbräune“ sein wird¹⁾.

¹⁾ Nach Abschluß der vorliegenden Arbeit erschien ein Aufruf von Dr. Sprau „Achtet auf die Braunfleckigkeit an Weizenähren“ in der Monatsschrift „Pflanzenschutz“ München 1. Jahrgang, S. 126, Nr. 10 Juli 1949. Danach sollen sich an den Spelzen der

Um aber eine weitere Sicherheit darüber zu erhalten, daß die von mir isolierten gelben Bakterien nicht mit *Pseud. translucens var. undulosa* identisch sind, wurden aus USA Reinkulturen dieses Krankheitserregers bezogen¹⁾.

Mit den beiden amerikanischen Stämmen XT₄ und XT₈ wurden hier Kaninchen gespritzt und die erhaltenen Seren zu Identitätsreaktionen verwandt, weil sich bisher derartige serologische Methoden als die empfindlichsten und zuverlässigsten erwiesen haben.

Die frisch gewonnenen Seren von XT₈ hatten einen Titer von 1:10 000, die von XT₄ waren etwas schwächer, ihr Titer erreichte die Höchstgrenze von 1:8000. In Kreuzversuchen erwiesen sich beide Stämme als vollkommen identisch, weshalb auch beide Seren von uns zur Durchprüfung unserer Gelbstämme verwandt wurden. Insgesamt wurden von den sehr zahlreichen, von uns isolierten und in Infektionsversuchen sich als negativ erwiesenen Stämmen, die teils von Spelzen, teils von Körnern stammten, für die Agglutinationsversuche sechzig ausgewählt. Nicht einer von diesen zeigte im serologischen Verhalten Übereinstimmung mit den amerikanischen Stämmen.

Damit ist einwandfrei erwiesen, daß es sich bei den von süddeutschem Weizenmaterial gezüchteten gelbwachsenden Bakterien nicht um *Pseud. translucens var. undulosa* handelt. Zu folgern ist daraus weiter, daß, sofern überhaupt bei dem Weizen in Weihenstephan eine Krankheit vorliegt, diese mit der Spelzenbräune in keinem Zusammenhang steht.

Die Spelzenbräune des Weizens tritt also bisher in Deutschland nicht auf. Andererseits aber ist bemerkenswert, daß an Spelzen und Körnern gesunder Weizenpflanzen, wie die obigen Versuche gezeigt haben, ungewöhnlich viele saprophytisch lebende gelbe Bakterien vorkommen, was darauf schließen läßt, daß die Keime auf der Oberfläche derartiger Organe besonders günstige Bedingungen vorfinden müssen.

Zusammenfassung

Aus Körnern und Spelzen von als „spelzenbräunekrank“ bezeichneten Weizenproben, die von der Bayerischen Landessaatzuchtanstalt Weihenstephan übersandt worden waren, konnten stets gelbwachsende Bakterien isoliert werden, die sehr viel Ähnlichkeit mit *Pseud. translucens var. undulosa*, dem Erreger der in USA, Kanada, Rußland und anderen Ländern vorkommenden Spelzenbräune (*black chaff*) des Weizens besaßen; sie erwiesen sich, unter den

Weizenähren bräunlich-schwarze, größere oder kleinere Flecken mit unscharfen Rändern zeigen und solche Flecken vielfach auch an den Spindeln, Halmen, Blattspreiten und Blattscheiden vorkommen. Die Körner befallener Pflanzen sollen klein bleiben und etwas schrumpfen, wodurch eine beachtliche Ertragsminderung hervorgerufen werde. Als Erreger ist nach Dr. Sprau *Septoria nodorum* Berk. (-*Macrophoma Hennebergii*) anzusehen.

Da das von mir untersuchte Material aus derselben Gegend in Bayern stammte wie das von Dr. Sprau, ist nicht zu verstehen, daß hier in Braunschweig in keinem einzigen Falle aus Körnern angeblich kranker Ähren kranke Pflanzen sich entwickelt haben, was doch bei einwandfrei parasitärer Ursache hätte zutreffen müssen.

¹⁾ Es sei an dieser Stelle nochmals Herrn Dr. A. C. Braun, Princeton, für die freundliche Überlassung bestens gedankt.

verschiedensten Bedingungen im Gewächshaus und Freiland geprüft, aber niemals als pathogen.

Auch aus als spelzenbräunekrank angegebenen Weizenähren direkt entnommenen und ausgelegten Körnern (zum Teil mit den Spelzen) entstanden niemals kranke, sondern stets gesunde Weizenpflanzen.

Von Körnern und Spelzen und auch von jüngeren Keimpflanzen gesunder Weizensorten konnten die gleichen gelbwachsenden Bakterien isoliert werden wie von den angeblich kranken.

Mit Hilfe serologischer Prüfungen von 60 derart reingezüchteten, gelbe Kolonien bildenden Bakterienstämmen ließ sich der einwandfreie Nachweis erbringen, daß die aus dem angeblich kranken Weizenmaterial aus Süddeutschland herausgezüchteten Bakterien nicht mit *Pseud. translucens var. undulosa* identisch sind.

Damit ist gleichzeitig sichergestellt, daß die seit Beginn des 20. Jahrhunderts in USA bekannte und wahrscheinlich aus Rußland eingeschleppte Spelzenbräune des Weizens in Deutschland bisher nicht vorhanden ist.

Literatur

1. Bamberg, R. H., The pathogenicity of *Bacterium translucens* var. *undulosum*. *Phytopathology* **22**, 4, 1932 (Abstract).
2. Bamberg, R. H., Black chaff disease of wheat. *Journ. Agric. Res.* **52**, 397—417, 1936.
3. Broadfoot, W. C. and Robertson, H. T., Pseudoblack of Reward wheat. *Science* **13**, 512—514, 1933.
4. Churchward, I. G., A note on the occurrence in New South Wales of black chaff of wheat caused by *Bacterium translucens* var. *undulosum*. S. J. and R. *Journ. Roy. Soc. N. S. W.* **68**, 104—106, 1935.
5. McDonald, I., Annual Report of the Senior Mycologist 1931. *Ann. Rep. Dep. of Agric. Kenya* for the year end. 31. 12. 31, 118—130, 1932.
6. Drayton, F. L., A summary of the prevalence of plant diseases in the Dominion of Canada 1920—1924. *Canada Dept. Agric., Div. Bot. Bull.* **71**, (N. S.) 1—61, 1926.
7. Elliott, Ch., Manual of bacterial plant pathogens. Baltimore 231—232, 1930.
8. McFadden, E. S., False "black chaff" of wheat produced by inoculating with stem rust. *Phytopathology* **27**, 801, 1937.
9. McFadden, E. S., Brown necrosis, a discoloration associated with rust infection in certain rust-resistant wheats. *Journ. Agric. Res.* **58**, 805—819, 1939.
10. Foëx, M., Station centrale de pathologie végétale de Paris. Rapport sur les travaux en 1926 et 1927. *Ann. Serv. des Epiphyties* **13**, 485, 1927.
11. Fomin, E., (Utilization of the varietal characters of plants in disease control.) *Bull. Ukrain. Sci. Rec. Inst. Grain. Cult., Phytopath. Lab. Kharkoff* **1**, 88—133, 1935.
12. Fröier, K., Brunfläcksjuka (*Bact. translucens* var. *undulosum*) och dess angrepp på olika Vete sorter. *Nord. Jordbr. Forskn.* **47**, 536—543, 1938.
13. Godkin, J., Physiological studies of *Bacterium translucens* var. *undulosum*. *Phytopathology* **19**, 99, 1929, (Abstract).
14. Gorlenko, M. V., (On the sources of infection of spring wheats with bacteriosis of the ears) (Russ.). *Pl. Prot. Leningrad* 109—114, 1936.
15. Gorlenko, M. V., (Summary of the scientific research work of the Inst. of Plant Protection for 1936. Part. I. Pests and diseases of cereals and shelter belts). *Publ. Off. Pan-Sov. V. I. Lenin Acad. Agric. Sci., Leningrad* 252 S., 1937.
16. Gorlenko, M. V., (Resistance of winter wheats to black bacteriosis [*Bact. translucens* var. *undulosum* S. J. R.]). *C. R. Acad. Sci. U. R. S. S.* **18**, 97—99, 1939.

17. Gorlenko, M. V., (The pathogenicity of different races of *Bact. translucens var. undulosum* to wheat). C. R. Pan-Sov. V. I. Lenin Acad. Agric. Sci., Moscow **6**, 26—28, 1941.
18. Haggborg, W. A. F., Black chaff, a composite disease. Canad. Journ. Res. **14**, 347—359, 1936.
19. Hocquette, M., Une nouvelle maladie du Blé dans le nord de la France: Le „black chaff“. C. R. Soc. de Biol. **100**, 270—271, 1929.
20. Hocquette, M., Nouvelles observations sur le „black chaff“ (été 1929). C. R. Soc. de Biol. **103**, 239—240, 1930.
21. Jaczewski, A. A., (Bacterial diseases of cereals). Bull. Appl. Bot. and Plant-Breeding, Leningrad **14**, 377—385, 1925. (Russ.)
22. Jones, L. R., Johnson, A. G. and Reddy, C. S., Bacterial blights of barley and certain other cereals. Science **41**, 432—433, 1916.
23. Marchal, E., Die während des Jahres 1929 in Belgien beobachteten Pflanzenkrankheiten. Internat. Anz. f. Pflanzenschutz, Rom **4**, 101, 1930.
24. Marchal, E., Recherches et observations effectuées à la Station de Phytopathologie de l'Etat pendant la période 1927—1931. Bul. Inst. Agron. et des Stat. de Recherches de Gembloux I. **3**, 164—174, 1932. (Flämische, deutsche und englische Zusammenfassung).
25. Millasseau, J., Note préliminaire sur une maladie bactérienne du blé. Rev. Path. Veg. et D'Ent. Agric. **15**, 279—284, 1928.
26. Pau, C. I., A genetic study of mature plant resistance in spring wheat to black stem rust, *Puccinia graminis tritici* and reaction to black chaff, *Bact. translucens var. undulosum*. Journ. Americ. Soc. Agron. **32**, 107—115, 1940.
27. Prisjashnjuk, A. A., (A new bacterial disease of the wheat „black chaff“ in the Lower Volga region). Plant Protec. Leningrad **8**, 305—308, 1931.
28. Sanford, G. B., Report of the Dominion Laboratory of Plant Pathology for Alberta. Report of the Dominion Botanist for 1927 Div. Botany, Canada Dept. Agric. **114**, 1928.
29. Smith, E. F., A new disease of wheat. Journ. Agric. Res. **10**, 51—54, 1917.
30. Smith, E. F., Black chaff of wheat. U. S. Dept. Agric. B. P. I. Plant Disease Survey Bull. **1**, 40, 1917.
31. Smith, E. F., Black chaff of wheat. U. S. Dept. Agric., B. P. I. Plant Disease Survey Bull. **2**, 98—99, 1918.
32. Smith, E. F., An introduction to bacterial diseases of plants. pp. 56, 70—72, 1920.
33. Smith, E. F., Black chaff of wheat in Russia. Science **63**, 305—307, 1926.
34. Smith, E. F., Jones, L. R. and Reddy, C. S., The black chaff of wheat. Science (n. s.) **50**, 48, 1919.
35. Stapp, C., *Schizomycetes* (Spaltpilze oder Bakterien). In Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten **2**, (5), 16—17, 1928.
36. Stapp, C., Verfahren zur Prüfung von Bohnen (*Phaseolus vulgaris*) auf Resistenz gegen *Pseudomonas medicaginis var. phaseolicola* Burk., den Erreger der Fettfleckenerkrankheit. Angew. Botanik **15**, 241—252, 1933.
37. Wallace, G. B., Plant pathology. Rep. Dept. Agric. Tanganjika 1935, 104—113, 1936.

*Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann*

Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf *Solanum lycopersicum* L.

Von
Guido Miescher

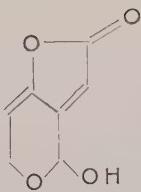
I n h a l t s ü b e r s i c h t: Einleitung — A. Die Patulinaufnahme und ihre Auswirkung auf Tomatenpflanze. I. Schädigungen an Stengeln und Blättern bei Aufnahme verschiedener Giftmengen in gleicher Konzentration (10–2 molar). II. Bestimmung des Schwellenwertes der toxischen Wirkung (Dosis minima). B. Die Leitung von Patulin in *Solanum lycopersicum* L.-Sprossen. I. Physiologische Versuche. II. Die Rillenbildung. C. Der Vorgang der durch Patulin verursachten Vergiftung, beobachtet an Staubfadenhaaren von *Tradescantia virginica*. D. Fragen der chemischen Reaktionsweise des Patulins: Die Blockierung von SH-Gruppen durch Patulin. I. Einleitung. II. Der Nachweis von SH-Gruppen in Lösungen. III. Modellversuche mit Cystein und Patulin. IV. Biologische Versuche. 1. Allgemeines. 2. Inaktivierung von Patulin durch SH-Verbindungen. 3. Inaktivierung von Patulin durch Thiolsulfat. 4. Frage der Reversibilität. V. Sulfhydrylverbindungen in Pflanzen und ihre Blockierung durch Patulin. 1. Herstellung des Extraktes. 2. Ergebnisse an frischem Pflanzenmaterial. 3. Ergebnisse an Pflanzen, welche Patulin aufgenommen haben. 4. Versuche mit Pflanzenextrakt. VI. Die Inaktivierung von Patulin in der Pflanze. E. Der photische Effekt. F. Zusammenfassung.

Einleitung

In den letzten Jahren hat sich das Institut für spezielle Botanik an der E.T.H. wiederholt mit dem Problem des parasitogenen Welkens befaßt. Es wurde versucht, Welkeerscheinungen an Pflanzen zu analysieren, die durch Parasiten hervorgerufen werden. Dabei galt das Interesse hauptsächlich den für den Wirt toxischen Ausscheidungsprodukten und deren Wirkung auf diesen. Es ist hier vor allem auf das in diesem Institut in Zusammenarbeit mit dem chemischen Institut der E.T.H. isolierte Lycomarasmin hinzuweisen (vgl. u.a. Plattner und Clauson-Kaas 1945).

Weiter wurden zu Vergleichszwecken verschiedene Antibiotika verwendet, die ja auch als Ausscheidungsprodukte — sei es von parasitischen oder saprophytischen Mikroorganismen — anzusprechen sind, und die auf die pflanzliche Zelle eine ähnliche Wirkung ausüben, was in der Artikelserie von Gäumann, Jaag und Mitarbeitern (1947) bearbeitet wurde: „Antibiotika als pflanzliche Plasmagifte“.

Ein dem Lycomarasmin analoges Produkt, dem die folgende Arbeit gewidmet ist, ist das Patulin. Es handelt sich dabei um ein $\alpha-\beta$ -ungesättigtes Lakton mit der Formel: $C_7H_6O_4$ (vgl. u.a. Birkinshaw, Michael, Bracken, und Raistrick 1943).



Nach Woodward und Singh (1949)

Patulin wird von verschiedenen Pilzen ausgeschieden, was zu verschiedenen Synonymen geführt hat. Unter anderem wurde es gewonnen aus *Aspergillus claratus* Desm., was zum Namen Clavatin führte, *Penicillium claviforme* Bainier (Claviformin), *Penicillium patulum* Bainier (Patulin), *Penicillium expansum* Link (Expansin) und *Penicillium urticae* Bainier. In seiner Wirkungsweise unterscheidet es sich von Lycomarasmin auf den ersten Blick vor allem dadurch, daß es bis zu einem hohen Grade unspezifisch ist.

An dieser Stelle soll besonders noch auf die Artikelserie von Gäumann und Jaag (1947) hingewiesen werden: „Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens“, in welchen Arbeiten vor allem die Wasserbilanz der mit Lycomarasmin und Patulin behandelten Pflanzen untersucht wurde. Diese Arbeiten zusammen mit den „Antibiotika als pflanzliche Plasmagifte“ liefern größtenteils die Ausgangslage für die folgende Arbeit.

Die vorliegende Arbeit entstammt einem Zyklus, der aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes unterstützt wurde; wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unser Dank wiederholen.

A. Die Patulinaufnahme und ihre Auswirkung auf Tomatensprosse

Als erste Tastversuche zum Teil schon für die Transpirationsarbeiten von Gäumann und Jaag (1947) wurde versucht, ein allgemeines Welkbild der mit Patulin behandelten Tomatensprosse zu erhalten. Es zeigte sich dabei bald, daß bei verschiedenen Dosierungen die Welksymptome nicht nur quantitativ, sondern ganz besonders auch qualitativ verschieden sind. Dies führte zur Anlage eines ersten Versuches, der vor allem zur Abklärung des qualitativen Welkbildes bei der Aufnahme verschiedener Giftmengen dienen sollte. Dabei sah man weiter, daß nicht nur die Giftmenge, sondern auch die Konzentration der Giftlösung von Einfluß ist. Mit der Konzentration jedoch bestimmen wir weitgehend, was uns als Hauptsache erscheint, die Zeitspanne, innerhalb welcher eine bestimmte Giftmenge aufgenommen werden kann.

In der ersten Versuchsreihe (Schädigungen an Stängeln und Blättern bei Aufnahme verschiedener Giftmengen) wurden daher bei einer bestimmten Konzentration die Welkeffekte verschiedener Giftquantitäten untersucht, während in der zweiten Versuchsreihe (Bestimmung des Schwellenwertes der toxischen Wirkung) der Einfluß verschiedener Konzentrationen auf den minimalen, eindeutigen, sichtbaren Welkeffekt (Schwellenwert der toxischen Wirkung oder Dosis minima) zur Frage stand.

Ein drittes Problem, das hier in der Behandlung folgen sollte, ist die Untersuchung über den Einfluß des Lichtes (vgl. Gäumann und Jaag 1947, „photischer Effekt“). Da die



Abb. 1
Tomatenstiel der ersten Vergiftungsstufe mit Rille
(Photogr. Institut E.T.H.)

Behandlung dieser Frage aber wenigstens teilweise im Zusammenhang mit der chemischen Wirkungsweise des Patulins steht, soll sie erst in diesem Zusammenhang behandelt werden (S. 392).

I. Schädigungen an Stengeln und Blättern bei Aufnahme verschiedener Giftmengen in gleicher Konzentration (10^{-2} molar)

Wie aus unveröffentlichten Versuchen von Jaag und aus eigenen Versuchen hervorgeht, kann man an Tomatensprossen ungefähr drei sich folgende Stufen von Patulin herrührenden Vergiftungsercheinungen unterscheiden:

(Gearbeitet wird mit 20—50 g schweren Sprossen junger Pflanzen, die über den Wurzeln abgeschnitten werden, eine bestimmte Zeit in ein Potetometer eingespannt, in der Patulinlösung und darauf folgend in Leitungswasser beobachtet werden. Die Versuchsbedingungen sind: Tageslicht, 20° C und 65% relative Feuchtigkeit.)

1. Stufe: Die Pflanze nimmt je Kilogramm Frischgewicht etwa 10—20 mg Patulin einer 10^{-2} molaren Lösung auf (Dauer der Giftaufnahme zwischen 10 und 20 Minuten). Nach ungefähr 10 Stunden führt dies meistens zu einem symptomlosen, leichten Erschlaffen der ganzen Pflanze. Entlang dem Stengel beginnen sich eine Art Streifen von etwas dunklerer Farbe als die Epidermis zu differenzieren, die immer direkt über einem Leitbündel gelegen sind, meist jedoch nur über den größeren. Etwa 48 Stunden nach der Überführung in Wasser hat sich die Pflanze meist wieder ganz erholt. Dagegen findet man nun an Stelle der Streifen auf dem Stengel mehr oder weniger tiefe Rillen, unter denen das Rindengewebe in den Stengel eingesunken ist. Diese Rillen (vgl. Abb. 1) verlieren bald ihre grüne Farbe, um in ein helleres Graubraun umzuschlagen. Es ist offensichtlich: das Gewebe über dem Leitbündel ist abgestorben. Die Umgrenzung zum umliegenden, unveränderten Gewebe ist sehr scharf. Im Verlauf der folgenden Tage treten keine neuen Merkmale mehr auf. Oft bilden sich sogar am Stengel Adventivwurzeln.

2. Stufe (vgl. Abb. 2): Die Pflanze nimmt je Kilogramm Frischgewicht 30—70 mg Patulin auf (Dauer der Giftaufnahme etwa 30—120 Minuten). Die Pflanze entwickelt sich ganz analog zur ersten Stufe. Außer den Rillen auf dem Hauptstengel bilden sich in der Folge oft auch Rillen entlang von



Abb. 2
Tomatensproß der zweiten Stufe 4 Tage nach der Giftaufnahme: Hauptstengel mit tiefen Rillen, Blattstiele zum Teil durchgewellt, Blätter stark gekräuselt (vgl. Abb. 3)
(Photographisches Institut E.T.H.)



Abb. 3

Tomatenblatt mit braunverfärbten Blattäderchen. Man beachte auch die Kräuselung des ganzen Blattes infolge Schrumpfung der ausgetrockneten Blattäderchen (2. Stufe) (Photographisches Institut E.T.H.)

Patulin erreicht worden ist (Gipfelsproß und Blattspreiten), welkt physiologisch wegen Wassermangels, da das Wasserleitungsgewebe nicht mehr funktionsfähig ist (vgl. Abb. 14).

3. Stufe (vgl. Abb. 4): Die Pflanze nimmt je Kilogramm Frischgewicht 200 mg Patulin und mehr auf in einer Zeit von 3 und mehr Stunden.

Diese Giftmenge genügt, um sämtliche Pflanzenzellen abzutöten. Nach 12 Stunden und länger sieht die Pflanze verblüffend einer vom Frost heimgesuchten ähnlich. Alles hängt und ist schlaff. Die Blätter sind etwas dunkler. Beim leichtesten Druck darauf werden sie durchscheinend. Der Stengel ist, soweit er nicht verholzt ist, schwammig weich. Jeglicher Turgor scheint verloren zu sein. Ohne äußeren Halt sinkt die Pflanze wie ein Lappen in sich zusammen. Von den Symptomen, wie sie bei der ersten und zweiten Stufe beschrieben wurden, läßt sich kaum etwas nachweisen. Es scheint, daß der pflanzliche Zellorganismus als Ganzes mehr oder weniger überall zur gleichen Zeit zusammenbricht.

Blattstielen, vorzugsweise der unteren oder aber besonders großen Blättern, die dementsprechend auch stärker transpirieren, die aber auch immer bei den großen Leitbündeln liegen. So kann es vorkommen, daß sich eine große Rille direkt in einen Blattstiel fortsetzt, ohne sich im Stengel weiter nach oben fortzusetzen. Einige Zeit später verfärbten sich die Hauptnerven der Blätter bräunlich (vgl. Abb. 3), oft auch sämtliche Nebenadern, schrumpfen zusammen und sterben ab. Die Interkostalfelder jedoch bleiben bis zuletzt mehr oder weniger unversehrt. Steigert man die Giftgabe langsam über die angegebene obere Grenze, so beginnen die Interkostalfelder entlang der größeren Blattadern, besonders auch der spitzen Winkel bei Verzweigungen, zu erschlaffen und abzusterben.

Wenn in der zweiten Stufe auch offensichtlich gewisse Teile der Pflanze (besonders die Interkostalfelder) vom Gift nicht erreicht werden, so ist die Schädigung des pflanzlichen Leitungsapparates doch derart, daß die Pflanze nach 2 bis 4 Tagen eingeht. Was nicht vom

II. Bestimmung des Schwellenwertes der toxischen Wirkung (Dosis minima) bei fallenden Konzentrationen und konstanten Außenbedingungen (20° C, 65 % rel. Feuchtigkeit und Tageslicht)

Wie aus dem vorhergehenden Abschnitt hervorgeht, beträgt bei einer 10^{-2} molaren Patulinlösung die kleinste Patulinmenge, bei der man gerade noch eindeutige Welksymptome feststellen kann, etwa 10—20 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht. Die Frage ist nun: Wie verschiebt sich dieser Schwellenwert bei Anwendung von fallenden Konzentrationen: 10^{-2} , $10^{-2,5}$, 10^{-3} , $10^{-3,5}$ und 10^{-4} molaren Lösungen?

Das Vorgehen war folgendes: der Tomatensproß wird abgeschnitten und gleich gewogen, worauf berechnet wird, wie viele Kubikzentimeter der betreffenden Patulinlösung er aufnehmen muß, um eine bestimmte Menge Patulin je Kilogramm Frischgewicht zu erhalten.

Die ersten Pflanzen erhalten Mengen einer Konzentration, von denen man annimmt, daß noch ein deutlicher Welkeffekt erzielt wird. Mit weiteren Pflanzen wird darauf diese verabreichte Dosis stufenweise verringert, bis sich keine eindeutige Wirkung mehr feststellen läßt.

Die Giftmenge, die bei einer bestimmten Konzentration gerade noch ausreicht, einen eindeutigen Effekt zu erzielen (Rillen, braun verfärbte Gefäßbündel usw.), bezeichnen wir als Dosis minima oder Schwellenwert der toxischen Wirkung.

Dieses Vorgehen kam bei jeder der 5 Konzentrationen zur Anwendung.

Einen gewissen Aufschluß ergeben schon die Zeiten, die benötigt werden, um beispielsweise 20 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht aufzunehmen:

Bei einer 10^{-2} molaren Lösung beträgt sie etwa 10 Minuten, bei 10^{-3} molar etwa 2 Stunden und bei 10^{-4} molar 24 Stunden, wobei Schwankungen bis nahezu 100 % wahrgenommen wurden.



Abb. 4

Tomatenproß der dritten Stufe etwa 48 Stunden nach der Giftaufnahme. Alles bis zu den kleinsten Blättchen ist schlaff und abgestorben. (Phot. G. Miescher)

Man sieht schon daraus, daß kleinere Konzentrationen als 10^{-4} molar kaum verwendet werden können, denn die Aufnahmezeiten für eine wirksame Giftmenge würde innerhalb der Versuchsdauer (maximal 4 Tage) nicht ausreichen. Das gleiche konnte bei den Transpirationsversuchen von G à u m a n n und J a a g festgestellt werden.

Die Resultate sind folgende:

Zwischen 10^{-2} und 10^{-3} molar verschiebt sich der Schwellenwert kaum innerhalb der Fehlergrenzen. Bei $10^{-3,5}$ molar ist ungefähr die doppelte Giftmenge, also rund 40 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht, notwendig. Sämtliche Pflanzen weisen nach ungefähr 4 Tagen mehr oder weniger kräftige Streifen bis Rillen an Haupt- und Blattstengeln auf. Selten sind auch einige wenige Blattäderchen, besonders der unteren Blätter, braun verfärbt. Die durchschnittenen Stengel zeigen stark braun verfärbte Gefäßbündel. Bei 10^{-4} molar erreicht man nach einer 48 stündigen Aufnahme gerade noch ungefähr 50 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht, über die man auch in der Folgezeit kaum weit hinauskommt, da die Flüssigkeitsaufnahme auf einen Bruchteil der anfänglichen gefallen ist. Äußerlich sieht die Pflanze, abgesehen von einigen ganz leichten, unscheinbaren Streifen am Stengel, normal aus. Wird dieser hingegen durchschnitten, so findet man bis zu seiner halben Höhe mehr oder weniger braun verfärbte Gefäßbündel. Eine gewisse Schädigung läßt sich also doch noch nachweisen.

Tabelle 1
Bestimmung der Dosis minima von Patulin bei fallenden Konzentrationen
(Tageslicht [Januar], 20° C und 65 % rel. Feuchtigkeit).

Konzentration molar	Aufnahmezeit Std.	Patulin je kg Frischgewicht	Wirkung nach 4 Tagen
10^{-2}	$\frac{1}{6}$	10—20	Hauptsächlich am Stengel, teils auch an Blattstielen leichte Rillen. Gefäßbündel braun verfärbt
$10^{-2,5}$	$\frac{1}{3} — \frac{1}{2}$	10—20	dasselbe
10^{-3}	$1\frac{1}{2} — 2\frac{1}{2}$	20	dasselbe
$10^{-3,5}$	etwa 15	30—40	dasselbe
10^{-4}	etwa 50	50	teilweise ganz leichte Streifen am Stengel; sonst äußerlich normal. Gefäßbündel hingegen besonders in der unteren Hälfte des Stengels braun

Bei all diesen Versuchen ist als konstant vorausgesetzt: Temperatur (20° C), Lichtintensität (Tageslicht im Glashaus, Januar) und relative Feuchtigkeit (65 %). Dadurch sollte vor allem ein vierter Faktor konstant werden, nämlich die Flüssigkeitsaufnahme je Zeiteinheit (z. B. Stunde) und je Kilogramm Frischgewicht: eine „Konstante“ jedoch, die innerhalb ziemlich großer Grenzen nicht fixiert werden kann, da die individuellen Schwankungen bei den einzelnen Pflanzen recht groß sind. Tatsächlich spielt es eine gewisse Rolle, wie lange sich ein Giftmolekül im Leitgewebe befindet, ob es nach 10 oder erst nach 50 Minuten in die Interkostalfelder der Blätter gelangt. (In unserer Versuchsanordnung wird die Zeitspanne ungefähr zwischen 20 und 30 Minuten

liegen). Im zweiten Fall, d. h. nach 50 Minuten, kommt es hauptsächlich in den Leitgeweben des Stengels zur Wirkung, während aktives Patulin kaum bis zu den Blättern gelangt. Im ersten Fall (nach 10 Minuten) jedoch treten auch in den Blättern und dort besonders in den Blattäderchen Welksymptome auf. Dies z. B. bei hoher Temperatur, starkem Licht und trockener Luft an kräftig gewachsenen Pflanzen.

In diesem Zusammenhang muß auf einen recht groben Meßfehler hingewiesen werden: Trotzdem das Patulin in den beschriebenen Versuchen sicher nur einen kleinen Prozentsatz der pflanzlichen Zellen erreichte und beschädigen konnte, wird die Dosierung mit „Milligramm Patulin je Kilogramm Frischgewicht“ berechnet und die falsche Vorstellung erweckt, daß sämtliche Pflanzenzellen daran ungefähr denselben Anteil erhalten. Eine Fehlerquelle, die bei der relativ langsam Leitung in pflanzlichen Leitsystemen (im Gegensatz z. B. zum Blutkreislauf beim Menschen) nicht vermieden werden kann.

Daß bei einer Konzentration von 10^{-4} molarem Patulin der Schwellenwert plötzlich stark steigt, ist sicher damit in einen Zusammenhang zu bringen: entweder wird es größtenteils in den Gefäßbündeln abgebunden (braune Verfärbung derselben), oder aber die pflanzliche Zelle hat die Möglichkeit, sich während der sehr langsam Giftaufnahme zu regenerieren. Daß Patulin von selbst inaktiviert wird, dagegen spricht seine relativ große Beständigkeit in wäßriger Lösung, besonders aber, wenn man das saure Milieu in der Pflanze (etwa pH 4,5) berücksichtigt.

B. Die Leitung von Patulin in *Solanum lycopersicum* L.-Sprossen

I. Physiologische Versuche

Aus der Überlegung, daß Patulin im Wasser gelöst ist und daß das Wasser im Wasserleitungsgewebe transportiert wird, kann man mit größter Wahrscheinlichkeit auch annehmen, daß das Patulin im Wasserleitungsgewebe verfrachtet wird. Dies besonders auch, da wir nur mit abgeschnittenen Tomatensprossen arbeiten. Dennoch wurde diese Frage in einem besonderen Versuch abgeklärt.

Von zwei abgeschnittenen Tomatensprossen wird die Rinde bis 3 cm über der Schnittstelle am Stengel gänzlich entfernt (am einfachsten durch Abschaben mit einem scharfen Messer). Die abgeschabten Stummel werden fest mit Leukoplast umwickelt, etwas eingefettet und bis zum Beginn der Rinde in einen etwa 30 cm langen Gummischlauch gesteckt, so daß ein absolut dichter Abschluß erzielt wird.

Bei der ersten Pflanze füllt man nun den Schlauch mit 10^{-2} molarem Patulin so, daß keine Luftblasen im Schlauch sind. Die Pflanze selbst wird in Wasser gestellt, das freie Ende des Schlauches gibt man in ein bereitstehendes Gefäß mit Patulin (vgl. Abb. 5).

Die Pflanze steht somit mit der gesamten Rinde (eingeschlossen Phloem) in gewöhnlichem Wasser und mit dem Xylem (eingeschlossen Mark und

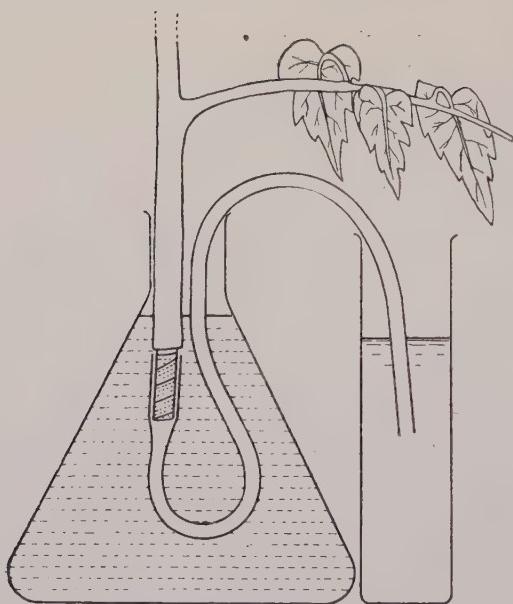


Abb. 5
Erklärung im Text

knickt und schlaff.
Sonst normales Aussehen.

Pflanze Nr. 1 wird ausgeschieden, Nr. 2 weiter beobachtet.

Es lässt sich nun in den folgenden Tagen Schritt um Schritt verfolgen, wie die Wirkung des Patulins langsam von Blatt zu Blatt nach oben hin fortschreitet, wobei gegen das Ende des Versuches eine typische Beschleunigung festgestellt werden konnte. Nach 6 Tagen stirbt der ganze Stengel des Gipfelsprosses ab und knickt um. Damit findet der Versuch seinen Abbruch.

primärem Phloem [kleine Fehlerquelle] in Patulin.

Genau das Entgegengesetzte geschieht mit der zweiten Pflanze. Der Schlauch wird mit Wasser gefüllt, und die ganze Pflanze in Patulin gestellt.

Resultat nach 12 Stunden:

Pflanze Nr. 1 zeigt alle Welkerscheinungen, die eine ganz in Patulin stehende Pflanze zeigen würde (Schlaffheit, Durchknicken der Blattstiele, Beginn der Rillenbildung usw.). Pflanze Nr. 2 ist noch absolut turgeszent und unbeschädigt (vgl. Abb. 6).

Resultat nach 2 Tagen:

Pflanze Nr. 1 ist total welk und abgestorben. Bei Pflanze Nr. 2 ist das unterste Blatt ge-



Abb. 6
Versuch über die Leitung des Patulins 18 Stunden nach Versuchsbeginn. Linke Pflanze: Xylem in einer 10–2 molaren Patulinlösung. Die Pflanze ist total zusammengebrochen. Rechte Pflanze: Xylem in Wasser, Rinde in Patulinlösung. Leichte Rillen sind vorhanden; im übrigen ist die Pflanze normal. (Phot. G. Miescher)

Es wurde somit erwiesen, daß das Patulin sehr rasch dem Xylem folgt, so daß die Welkeerscheinungen ziemlich gleichzeitig an allen Teilen der Pflanze manifest werden. Bei Pflanze Nr. 2 liegt die Vermutung nahe, daß ein kleiner Teil des Giftes auf osmotischem Wege im Rindengewebe aufsteigt. Wahrscheinlicher ist es jedoch der ziemlich groben Versuchsanordnung zuzuschreiben, wenn sich im späteren Verlauf des Versuches doch Rillen bilden.

Um die Art der Leitung weiter zu verfolgen, wird ein zweiter Versuch angelegt:

Beobachtet man makroskopisch den Querschnitt des Tomatenstengels (vgl. Abb. 7), so fällt auf, daß das sekundäre Xylem nicht einen gleichmäßig verlaufenden Zylinder darstellt, sondern daß es drei bis vier Stellen mit primären Leitbündelzentren gibt, wo das sekundäre Xylem sehr stark verdickt ist. Im Mikroskop sieht man dann auch, daß der Querschnitt der

Wasserleitungszellen dort am größten ist.

Ein solches Segment wird in einer Höhe von 3 cm über der Schnittstelle freigelegt, indem der Rest des Stengels rundherum weggeschnitten wird. Für diesen Versuch eignen sich am besten stärker verholzte Tomaten. Der entstandene Zapfen wird etwas abgerundet, dicht mit Isolierband umwickelt und etwas eingefettet. Er wird gleich wie im ersten Versuch in einen mit einer 10^{-2} molaren Patulinlösung gefüllten Schlauch gesteckt. Die ganze Pflanze stellt man in Wasser.

Nach 12—15 Stunden ist ein Sektor der Pflanze schlaff geworden, während der Rest noch normal turgeszent dasteht. Die Trennungslinie ist so scharf, daß im vorliegenden Beispiel ein Blatt in der einen Hälfte gänzlich welkte, während die andere Hälfte frisch und turgeszent blieb (vgl. Abb. 8).

Aber auch bei diesem Beispiel bleibt das Welken nicht auf diesen Abschnitt beschränkt. Der Sektor verbreitert sich bei dauernder Giftaufnahme fortlaufend, und nach etwa 3 Tagen ist die ganze Pflanze welk. Auch hier verbreitet sich das Gift wahrscheinlich osmotisch von den Leitbündeln aus durch die ganze Pflanze. Das erklärt wohl die so typische Streifen- und Rillenbildung entlang des Stengels:

Da, wo das Xylem am stärksten entwickelt ist, wird am meisten Gift transportiert, welches an diesen Stellen zuerst durch die Rinde diffundiert und diese dort zum Absterben bringt. Das abgestorbene Gewebe fällt ein

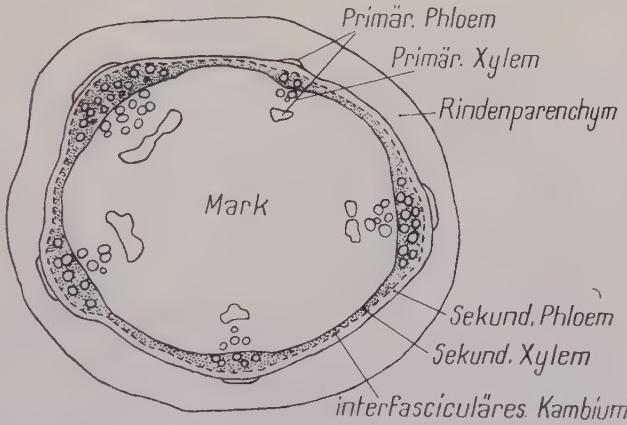


Abb. 7
Schematischer Schnitt durch einen Tomatenstengel
(Vergrößerung 1:20)

und verfärbt sich. Wird wenig Gift verabreicht, z. B. bei der ersten Vergiftungsstufe, so wird nur eine gewisse Zone um die Leitbündel (in der das Gift wahrscheinlich neutralisiert wird [vgl. S. 391 und 393]) zum Absterben gebracht. Es entstehen Rillen. Werden aber dauernd große Giftmengen nachgeschoben

(3. Vergiftungsstufe), so schreitet der Welk vorgang weiter, bis der Stengel als Ganzes abgestorben ist.

Eindeutiger kann diese Erscheinung am mikroskopischen Präparat dargelegt werden (vgl. Abb. 9 und 10).



Abb. 8

Nur ein Segment eines Tomatenstengels wird in Patulin gestellt. Der gewinkelte Sektor verläuft in den ersten 24 Stunden so scharf, daß im abgebildeten Beispiel ein Blatt, das gerade auf der Trennungslinie lag, in der einen Hälften welkte, während die andere unversehrt blieb
(Phot. G. Miescher)

Nach dieser Abbildung könnte man den Eindruck gewinnen, daß die Giftwirkung nur nach außen, gegen die Rinde hin, zutage tritt, nicht aber gegen das Mark hin. Dem ist nicht so. Schon makroskopisch fällt nämlich auf, daß die Rillen im jungen Trieb (näher der Vegetationsspitze) viel tiefer eingefallen als im älteren Trieb. Mikroskopische Präparate von Querschnitten

II. Die Deutung der Rillenbildung an Hand mikroskopischer Präparate

Der Tomatenstengel besitzt wie alle *Solanaceen* offene bikollaterale Leitbündel. Frühzeitig beginnt sich das sekundäre Leitgewebe zu differenzieren, indem ein interfasciculäres Kambium zwischen dem äußeren primären Phloem und dem primären Xylem in Tätigkeit tritt und auf diese Weise alle Leitbündel verbindet (vgl. Abb. 7). Es entsteht somit ein solider verholzter Zylinder, der der wachsenden Pflanze den nötigen Halt verschafft. Waren schon zu Beginn die primären Leitbündel verschieden mächtig gebaut (indem die kräftigen Leitbündel auch kräftig entwickelte Blätter versorgen), so setzt sich das nun fort, daß bei den kräftigen primären Leitbündeln auch die weitumligsten Siebröhren vorkommen (vgl. Abb. 9).

Am Querschnitt eines mit Rillen behafteten Stengels der ersten Vergiftungsstufe fällt folgendes auf (vgl. Abb. 10):

Da, wo die größten Anhäufungen von Siebröhren vorkommen, d. h. bei den ehemaligen primären Leitbündeln, ist in der Regel über diesen die gesamte Epidermis, Rindenparenchym und Phloem bis auf den resistenten Holzzylinder des sekundären Xylems eingefallen und zusammengeschrumpft.

aus dieser Gegend zeigen denn auch bei jungen Pflanzen, daß der stützende Holzylinder noch nicht oder erst viel zu schwach entwickelt ist, und daß daher das ganze vergiftete Gewebe rund um das Leitbündel bis tief ins Mark eingesunken ist. Im abgebildeten Schnitt kann gerade noch der erste Beginn des Einsinkens ins Mark beobachtet werden, indem einige Markzellen in der Gegend großer Siebröhren sich zu deformieren beginnen, d. h. daß ihre Zellwände Deformierungsscheinungen aufweisen.

An Hand der Schnitte kann daher einzig geschlossen werden, daß sich das Gift, das im Wasserleitungsgewebe schnell bis in die Blätter geleitet wird, rund um dieses Gewebe langsam, wahrscheinlich hauptsächlich durch Osmose, verteilt.

Über den eigentlichen physiologischen Vorgang des Welkens wird jedoch nichts ausgesagt. Der entscheidende Vorgang spielt sich höchst wahrscheinlich innerhalb der Zelle im Plasma ab. Aber gerade dieses können wir zuverlässig nicht in Schnitten beobachten. Was wir reproduzieren können, sind die deformierten Zellwände von Zellen, die schon längst unter dem Einfluß des Giftes abgestorben sind.

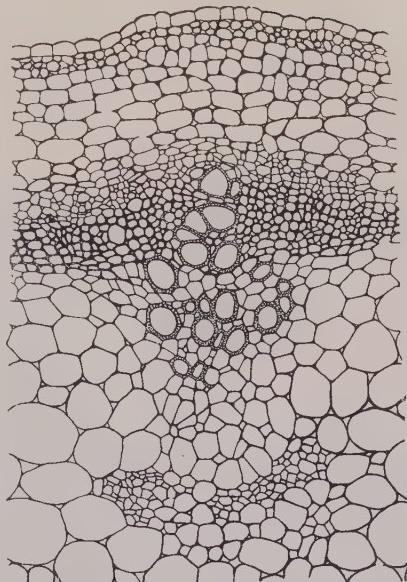


Abb. 9

Querschnitt durch das Leitgewebe eines leicht verholzten Tomatenstengels. Tuschezeichnung von Paraffinschnitt, gefärbt mit Chrysoidin und Hämatoxylin
(Vergrößerung 1 : 100)

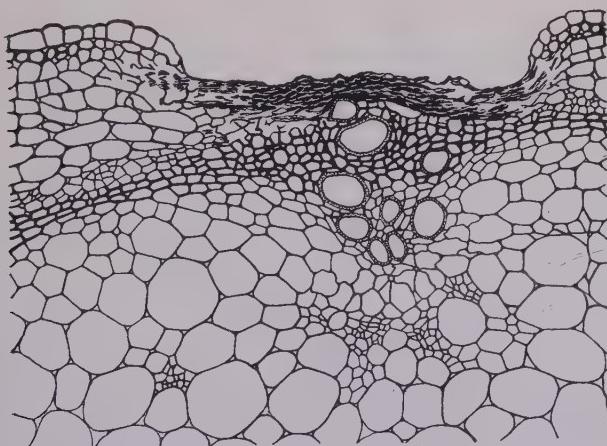


Abb. 10.

Querschnitt durch einen Tomatenstengel. Über dem Leitbündel eine durch Patulin erzeugte Rille. Tuschezeichnung von Paraffinschnitt, gefärbt mit Chrysoidin und Hämatoxylin
(Vergroßerung 1 : 100)

Ein weiterer Versuch, dem physiologischen Vorgang näher zu kommen, wurde von Gäumann und v. Arx (1947) unternommen. Sie benützten unter anderem die Plasmolysierbarkeit einer pflanzlichen Zelle (*Spirogyra*) als Indiz, ob die Zelle noch normal sei. Bei steigenden Patulingaben fanden sie, daß die Zeit, innerhalb welcher Plasmolyse möglich ist, abnimmt. Nach dieser Spanne tritt keine Plasmolyse mehr auf.

Wir versuchten im Anschluß an diese Arbeit an Hand von *Tradescantia*-Staubfadenhaaren sowie von Epidermis von *Allium cepa*-Zwiebelschuppen, die Wirkung von Patulin auf die lebende Zelle direkt unter dem Mikroskop im Dunkelfeld zu beobachten, um allfällige weitere Symptome festzuhalten zu können.

Die Ergebnisse von *Allium cepa* entsprechen denen von *Tradescantia*. Letztere sind jedoch anschaulicher, weshalb nur die *Tradescantia*-Versuche besprochen werden sollen.

C. Der Vorgang der durch Patulin verursachten Vergiftung, beobachtet an den Staubfadenhaaren von *Tradescantia virginica*

1. Versuch:

Auf einen Objekträger werden einige Staubfadenhaare von frisch geöffneten Blüten gelegt und in Brunnenwasser eingeschlossen. Beobachtet wird im Dunkelfeld mit Ölimmersion.

Da das an und für sich farblose, optisch leere Zytoplasma ein etwas anderes Lichtbrechungsvermögen besitzt als die umgebende Vakuolenflüssigkeit, heben sich die Plasmastränge im Dunkelfeld leicht ab. Die Chondriosomen, mit denen das Plasma dicht durchsetzt ist, leuchten als kleine, weiße Kugelchen hell auf. Sie weisen alle eine typische, doch nicht sehr heftige Brown'sche Molekularbewegung auf. Das Plasma selbst in den Plasmasträngen scheint in flüssiger Bewegung zu sein. Die Stränge wechseln ihre Richtung, Geschwindigkeit, ihren Durchmesser usw. Bald strömen sie mehr der Zellwand entlang, bald fließen sie diagonal durch die Zelle, bald versiegen die einen und bilden sich wieder neue. Der Zellkern ruht meist irgendwo an der Zellwand. Er bildet eine Art Zentrum, indem sehr viele Plasmastränge bei ihm endigen oder von ihm ausgehen. Auch ist er rege von Plasma umströmt.

2. Versuch:

Das gleiche wie bei Versuch 1. Als Einschlußmittel wird eine 10^{-2} molare Patulinlösung verwendet.

Als erste Sonderheit fällt auf, daß ungefähr 10 Minuten nach dem Einschluß die Molekularbewegung der Chondriosomen aufhört. Das Plasma scheint etwas träger zu fließen. Eine genaue Angabe der Geschwindigkeit ist jedoch praktisch unmöglich, da die verschiedenen Plasmastränge von vornherein schon verschiedene Geschwindigkeiten aufweisen.

5 Minuten später treten Stockungen in den einzelnen Strängen auf. Es bilden sich Wülste oder Engpässe. Das Plasma fließt nun eindeutig langsamer. In gewissen Strängen hat die Fortbewegung beinahe gänzlich aufgehört, in anderen fließt es noch relativ normal.

30 Minuten nach Versuchsbeginn steht das Plasma praktisch in allen Zellen still. Die meisten Zellen sehen, abgesehen vom Fehlen jeder Plasmabewegung, normal aus. Bei einigen Zellen jedoch fällt die eigenartige Struktur der Plasmafäden mit ihren Knoten und Engpässen auf. In anderen Zellen scheinen sich ein paar Chondriosomen vom Plasma gelöst zu haben. Auf

alle Fälle schwimmen sie mit heftiger Molekularbewegung in der Vakuole und betonen damit noch ganz besonders den Starrezustand des umliegenden Plasmas.

Ungefähr $2\frac{1}{2}$ —4 Stunden nach Versuchsbeginn beginnt das Plasma sich leicht milchig zu verfärben. Nach Strugger (1935) würde das heißen, daß das Plasma koaguliert, denn koaguliertes Plasma ist nicht mehr optisch leer. Es würde dies aber auch heißen, daß die Zelle tot ist. Strugger braucht gerade diesen Nachweis, ob das Plasma im Dunkelfeld optisch leer ist oder nicht als Indiz für lebende oder tote Zellen.

In der Folge löst sich plötzlich sehr rasch innerhalb 5—15 Minuten das gesamte Plasma von der Zellwand los und schrumpft knittig wie ein zusammengeknüllter Papiersack zusammen.

Damit findet der Versuch seinen Abschluß.

Zu Kontrollzwecken werden zwei Versuche angelegt:

1. *Tradescantia*-Staubfadenhaare, in Brunnenwasser eingeschlossen, werden 6 Stunden nach dem Einschluß beobachtet: sämtliche Zellen leben noch.
2. *Tradescantia*-Staubfadenhaare, in 10^{-1} molarer Rohrzuckerlösung (10 mal höhere Konzentration als Patulin) eingeschlossen, werden 6 Stunden nach dem Einschluß beobachtet: sämtliche Zellen leben noch und sind normal.

Um die Wirkung des Patulins auf *Tradescantia*-Staubfadenhaare zu deuten, sind unserer Ansicht nach folgende Erklärungen möglich:

1. Patulin erhöht die Viskosität des Zytoplasmas, was zum Absterben der Zelle und zur Koagulation des Plasma führt.
2. Das Patulin bringt die Zelle zum Absterben durch irgendwelche unbekannte, z. B. enzymatische Wirkung. Weil die Zelle abstirbt, wird die Viskosität des Plasmas höher, hört seine Bewegung auf und koaguliert es schließlich.

Es fragt sich also vor allem: ist die Viskositätsverhöhung Ursache oder Folge des Absterbens der pflanzlichen Zelle, eine Frage, deren Beantwortung uns nicht gelang. Da zwischen Viskositätsverhöhung und Koagulation des Plasmas 2—4 Stunden liegen, erscheint es als wahrscheinlich, daß die Koagulation des Plasmas eine Folgeerscheinung des Zelltodes ist (vgl. auch Gäumann 1948).

D. Fragen der chemischen Reaktionsweise des Patulins: Die Blockierung von SH-Gruppen durch Patulin

I. Einleitung

Wenn über die chemische Reaktionsweise des Patulins auch bei weitem noch nicht Klarheit besteht, so sind doch schon einige chemische Eigenschaften bekannt, die auf die mögliche Wirkungsweise des Patulins in lebenden Organismen hinweisen.

Die anscheinend wichtigste, bis heute bekannte Eigenschaft beruht darauf, daß Patulin durch SH-Verbindungen inaktiviert wird (Geiger und Conn [1945], Cavallito und Haskell [1945], Rinderknecht, Ward, Bergel und Morrison [1947]). Diese Eigenschaft ist jedoch keineswegs

nur dem Patulin eigen. Unter anderem werden auch Penicillin, Streptomycin und Gliotoxin durch SH-Verbindungen inaktiviert (Cavallito, Bailey, Haskell, McCormick und Warner [1945], Cavallito [1946]). Der Grad der Inaktivierbarkeit, sowie das verschiedene Verhalten auf verschiedene SH-Verbindungen ließ jedoch vermuten, daß die Reaktion der diversen SH-empfindlichen Antibiotika keineswegs eine einheitliche sei.

Patulin zeigt mit einigen anderen Antibiotika, die man chemisch in die Gruppe der ungesättigten Laktone einreihen kann, ähnliche Eigenschaften. Dazu gehören z. B. Penicillsäure, Anemonin, ein Antibiotikum aus *Arctium minus* (Cavallito, Bailey und Kirchner [1945]) und andere mehr. Es handelt sich bei sämtlichen um mehr oder weniger unspezifisch wirkende Antibiotika, die durch Cystein inaktiviert werden können.

Bei der Frage, wie Patulin *in vivo* wirkt, ist man vorläufig ganz auf Mutmaßungen angewiesen. In unsern Versuchsobjekten, den Pflanzen, tritt Cystein kaum frei auf, sondern ist mit anderen Aminosäuren zu Peptiden verbunden, wovon das bekannteste das Glutathion ist. Hydriertes und dehydriertes Glutathion können als Redoxpotential in Erscheinung treten (Frey-Wyssling [1945]). Es wäre daher denkbar, daß Patulin einen Einfluß auf das Redoxpotential der Pflanze ausübt.

Cavallito und Mitarbeiter sowie Geiger (1948) sind jedoch hauptsächlich der Meinung, daß durch das Patulin gewisse essentielle SH-haltige Enzyme blockiert werden (was nicht ausschließt, daß das Glutathion bei diesen enzymatischen Vorgängen eine Rolle spielen kann [Winterstein 1933]).

Für uns stellte sich die Frage vorerst einmal, ob diese Ergebnisse, die anhand von Bakterientesten erhalten wurden, auch für höhere Pflanzen ihre Geltung bewahren.

Zweitens versuchten wir den Nachweis zu erbringen, daß in der Pflanze auch tatsächlich SH-Gruppen durch Patulin blockiert werden.

Drittens schließlich wurde untersucht, wieviel Patulin von der Pflanze inaktiviert werden kann, und ob diese Inaktivierung in einem gewissen Verhältnis zu den blockierten SH-Gruppen steht.

II. Der Nachweis von SH-Gruppen in Lösungen

Bei der Wahl der Methode bestand die größte Schwierigkeit darin, 1. eine genügend empfindliche, 2. eine möglichst spezifische Reaktion zu finden, was bei einem äußerst komplex zusammengesetzten Pflanzenextrakt nicht einfach ist, und 3. sollte sie uns gestatten, quantitativ zu arbeiten.

Durch Prof. Dr. Plattner vom organisch-chemischen Institut an der E.T.H. wurden wir auf den Phosphorwolframsäuretest nach Folin und Trimble (1924), verbessert von Folin und Marenzi (1929) und von Lugg (1932), verwiesen. Der Test beruhte ursprünglich darauf, daß Sulfhydrylverbindungen und Disulfide in alkalischer Lösung mit Phosphorwolframsäure und Natriumsulfit eine Blaufärbung geben, die kolorimetrisch

gemessen werden kann. Phosphorwolframsäure jedoch, die durch SH-Gruppen wahrscheinlich reduziert wird und dadurch die blaue Farbe ergibt, war kein spezifisches SH-Gruppenreagens. — Ursprünglich wurde es als Harnsäure-reagens verwendet!

Besonders durch Lugg wurde die Methode dadurch verbessert, daß er sie mit der sehr spezifischen Reaktion von Sublimat ($HgCl_2$) mit SH-Gruppen (Bildung von Merkaptiden) kombinierte:

Es wurden zwei Messungen vorgenommen:

1. Extrakt + Reagens und 2. Extrakt + HgCl_2 + Reagens

Tritt in der Messung mit Sublimat noch eine blaue Farbe auf, so ist diese sicher nicht auf SH-Gruppen zurückzuführen. Die in dieser Messung durch Kolorimetrieren erhaltene Menge SH-Gruppen wird daher von der in den ersten erhaltenen subtrahiert.

Ein weiterer Vorzug besteht darin, daß die Prüfung in saurem Milieu, gepuffert auf pH 5,7, vorgenommen wird. Dadurch wird es möglich, neben-einander oxydierte (-S-S-) und reduzierte (SH-) Gruppen quantitativ zu bestimmen, und zwar folgendermaßen:

SH-Gruppen ergeben ohne Sulfit eine Farbe mit dem Reagens, -S-S-Gruppen dagegen nicht; letztere hingegen mit Sulfit die gleiche Farbstärke wie die gleiche Menge (in Gramm, nicht in Molekül) SH-Gruppen, also beispielsweise:

1 mg Cystein ($C_5H_7O_2NS$) entspricht 1 mg Cystin ($C_6H_{12}O_4N_2S_2$) + Sulfit
 1 mol Cystein entspricht 0,5 mol Cystin + Sulfit

SH-Gruppen ergeben hingegen mit Sulfit, wie sich experimentell feststellen lässt, genau den doppelten Farbwert wie ohne Sulfit oder wie -S-S-Gruppen mit Sulfit:

1 mg Cystein + Sulfit entspricht 2 mg Cystein ohne Sulfit

1 mg Cystein + Sulfit entspricht 2 mg Cystin + Sulfit

Die chemische Erklärung zu diesem Vorgang ist uns nicht bekannt. Sulfit allein gibt gar keine Farbe.

Führt man daher zwei Messungen mit dem gleichen Untersuchungsmaterial durch, einmal ohne, das zweite Mal mit Sulfit, so lassen sich nebeneinander SH- und -S-S-Gruppen (ausgedrückt z.B. als Cystein und Cystin) bestimmen, indem das erste Ergebnis (ohne Sulfit: ergibt effektive SH-Gruppen) mal zwei multipliziert vom zweiten Ergebnis (mit Sulfit: ergibt den SH-Gruppenwert doppelt + den -S-S-Gruppenwert einfach) subtrahiert wird, wonach die effektiven -S-S-Gruppen erhalten werden.

Weitere Details und Herstellung der Reagenzien vgl. Lugg (1932).

Die Messungen der erhaltenen Farbwerte werden im Pulfrichschen Photometer ausgeführt. Die Ablesung und Auswertung erfolgt an Hand von Eichkurven, die für Cystein, Cystin + Sulfit und Cystein + Sulfit ausgerechnet wurden (vgl. Abb. 11). Wie daraus hervorgeht, ist die entwickelte Farbtiefe von Cystein bei konstantem pH streng proportional zur Konzentration. Das gleiche gilt auch für Glutathion. Die Kurven von Cystein und Cystin + Sulfit

sollten identisch sein. Tatsächlich ergab sich aber bei den ausgeführten Messungen eine kleine Differenz, indem die Cysteinkurve um etwa 5% tiefere Werte ergab als theoretisch erwartet wurde.

III. Modellversuche mit Cystein und Patulin

Die ganze SH-Gruppen-Blockierungstheorie stützt sich auf folgenden Nachweis (Geiger und Conn u. a.):

Cystein (und andere SH-Verbindungen) ergeben mit Na-Nitroprussid einen positiven Test (violette Farbe). Gibt man jedoch zu den SH-Verbindungen einen Überschuß an Patulin z. B. im molaren Verhältnis 1:1,5, so unterbleibt nach einer gewissen Reaktionszeit die Farbbildung (negativer Test). Zu einem analogen Ergebnis gelangt man mit dem Phosphorwolframsäuretest.

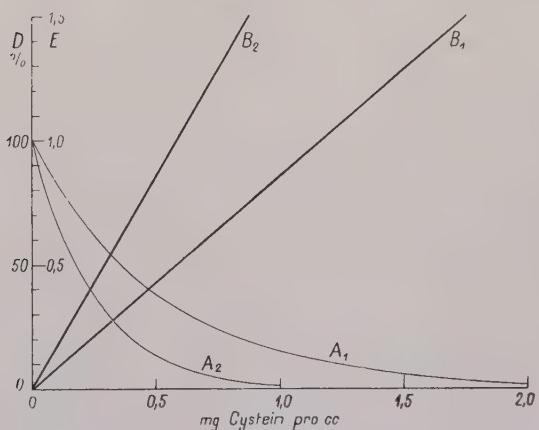


Abb. 11

Eichkurven von Cystein bzw. Cystein + Sulfit und Cystein + Sulfat. Am Photometer wird die Durchlässigkeit (D) direkt in Prozenten an einer Meßtrommel abgelesen, was zu den Kurven A₁ (Cystein) und A₂ (Cystein + Sulfat) führt. Am Pulfrichtschen Photometer ist auf der Meßtrommel weiter die Extinktion (E) = $(-\log D)$ angegeben. Verbindet man die so erhaltenen E-Werte, so erhält man die Geraden B₁ für Cystein und B₂ für Cystein + Sulfat.

man das Milieu wählt, desto kleiner wird der das Milieu zu sauer, so reagiert das Patulin nicht mehr mit den SH-Gruppen.

Befriedigende Resultate konnten erhalten werden, indem die Lösung auf pH 5,7 gepuffert wurde, weiter durch Belüften mit H₂ und Abschluß unter H₂-Atmosphäre bei einer Reaktionszeit von 5 Stunden im 40°-Thermostaten. Patulin reagiert relativ langsam mit Cystein: mit der gleichen Menge Sublimat ist die Reaktion schon nach 10 Minuten bei 50° abgeschlossen. Aus diesem Grund vor allem ist die Gefahr der Autoxydation im Versuch mit Sublimat bedeutend kleiner, gelingt der Versuch daher auch im allgemeinen besser.

Eineinhalb Äquivalente Patulin genügten, um die Farbreaktion bei Cystein und Glutathion (Hoffmann-La Roche) zu unterdrücken.

Bei den hier durchgeführten Modellversuchen wurde möglichst darauf geachtet, gleiche Verhältnisse zu schaffen wie bei den später zu beschreibenden Pflanzenextraktversuchen. Die SH-Konzentration, ausgedrückt als Cystein, wurde daher sehr klein gewählt (1 cc 10⁻² molares Cystein je Test).

Wie sich gleich zeigte, ist eine der größten Fehlerquellen die leichte Autoxydierbarkeit von Cystein. Je saurer Fehler. Wählt man anderseits (desgleichen das HgCl₂) nicht

IV. Biologische Versuche

Wie schon von Geiger und Conn, Cavallito u. a. an Hand von Bakterientesten gezeigt wurde, lassen sich nicht nur die SH-Gruppen durch Patulin blockieren, sondern das Patulin verliert dabei auch seine Toxizität gegenüber Lebewesen, d. h. es wird durch SH-Verbindungen inaktiviert.

Ähnliches wurde auch bei Sublimat gefunden, weshalb letzteres öfters zu Vergleichszwecken herbeigezogen wird.

Bevor daher die Wirkung von Patulin auf SH-Gruppen in der Pflanze untersucht wird, soll zuerst auch die Inaktivierung von Patulin durch zugefügte SH-Verbindungen an Hand von Pflanzenversuchen untersucht werden.

1. Allgemeines

Die verwendeten Tomatensprosse (18—26 g schwer) wurden in der üblichen Weise möglichst optimal in Wasserkulturen gezüchtet. Die Versuche wurden im Glashaus bei 24°, einer relativen Feuchtigkeit von etwa 70% und bei Tageslicht (Dezember) durchgeführt. Nach Aufnahme der bestimmten Patulinmenge (gemessen vermittelst des Potetometers) werden die Pflanzen in Brunnenwasser weiter beobachtet.

2. Inaktivierung von Patulin durch SH-Verbindungen

Cystein: Zu einer 10⁻¹ molaren Patulinlösung wird ein 50 prozent. Überschuß an Cystein-Hydrochlorid gegeben. Das pH wird mit 1n NaOH auf 5,7 eingestellt, das Gefäß mit den Lösungen unter H₂-Atmosphäre abgeschlossen und 5 Stunden in den 40°-Thermostaten gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit wird ein SH-Test nach Lugg ausgeführt. Wie zu erwarten, ist er stark positiv. (Nach Geiger und Conn [1945] verbinden sich ein Molekül Patulin mit einem Molekül Cystein. Es sollte daher im vorliegenden Fall noch ein Überschuß an SH-Gruppen nachweisbar sein.) Die Lösung wird hernach auf 10^{-2,5} molar in bezug auf Patulin verdünnt und ist somit für die Pflanzenversuche bereit.

Zur Kontrolle wird eine 10⁻¹ molare Patulinlösung — gepuffert auf pH 5,7 — 5 Stunden in den 40°-Thermostaten gestellt. Die Lösung erhält dadurch einen ganz leicht gelblichen Ton. Auf 10^{-2,5} molar verdünnt und getestet, konnte jedoch kein Aktivitätsverlust nachgewiesen werden.

Aus den folgenden Versuchen mit der Patulin-Cysteinlösung geht hervor, daß der Pflanze bis zu etwa 200 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht als 10^{-2,5} molare Lösung (Cystein nicht eingerechnet) verabreicht werden kann, ohne daß Welkeerscheinungen manifest werden, wogegen 50 mg reines Patulin als 10^{-2,5} molare Lösung schon ein sehr starkes Welken auslösen.

In den Kontrollversuchen mit 10⁻² molarem Cystein-Hydrochlorid, gepuffert auf pH 5,7, zeigt sich jedoch, daß diese Substanz für Pflanzen ziemlich toxisch ist (vgl. Brian, Jamieson, McGowan [1948]). Bei der Aufnahme von etwa 400 mg je Kilogramm Frischgewicht und mehr (ungefähr gleiches Molekulargewicht wie Patulin) färben sich die Stengel der Drüsenhaare in ausgedehnten Feldern schwarz. Es folgen Rillenbildung, zum Teil Nekrose der Interkostalfelder besonders entlang der Adern.

Glutathion (Hoffmann-La Roche): Eine $10^{-2,5}$ molare Lösung Patulin-Glutathion wird analog der Patulin-Cysteinlösung hergestellt. Der vor Versuchsbeginn ausgeführte SH-Test fällt positiv aus.

Im Pflanzenversuch erweist sich Glutathion sowie Patulin-Glutathion als ungefähr 3—5 mal weniger toxisch als Cystein-Hydrochlorid. Bei der Aufnahme von 800 mg Patulin (+ Glutathion, letzteres nicht eingerechnet) je Kilogramm Frischgewicht traten nach 4 Tagen leichte Schädigungen an einigen Blattspitzen auf; sonst blieb die Pflanze normal.

3. Inaktivierung von Patulin durch Thiosulfat, Metabisulfit und Sulfit

Geiger und Conn (1945) benützten zur Inaktivierung von Patulin gegenüber Bakterien — und zwar mit Erfolg — Na-Thiosulfat. Analoge Versuche unternahmen wir — wobei als weitere ähnliche Reduktionsmittel Na-Sulfit und Na-Metabisulfit geprüft wurden — an Hand unserer Tomaten teste. Alle drei Substanzen vermögen nebenbei Cystin zu Cystein zu reduzieren.

Es werden 10^{-2} molare Patulinlösungen hergestellt, welchen je die doppelte Menge (molar gemessen) der drei Substanzen zugegeben wird, so daß schlußendlich eine Lösung entsteht, welche Patulin 10^{-2} molar + Na-Sulfit, oder + Na-Thiosulfat, oder + Na-Metabisulfit 2×10^{-2} molar enthält. Bei Na-Sulfit mußte vor dem Zufügen zum Patulin das pH mit 1n HCl auf pH 5,7 eingestellt werden. Nachdem die Lösungen 24 Stunden im 37° Thermostaten gestanden haben, sind sie für die Pflanzenversuche bereit.

Eine gleich behandelte, reine Patulinlösung hatte dadurch keinen meßbaren Aktivitätsverlust aufzuweisen.

Die Patulin-Thiosulfatlösung verfärbte sich satt rotbraun, blieb aber klar, desgleichen die Patulin-Sulfitlösung, welche eine gelborange Tönung angenommen hat. Das Patulin-Metabisulfit blieb gänzlich farblos. pH-Änderungen, gemessen mit Indikatorpapier, traten nicht auf.

Im Pflanzenversuch zeigt sich, daß eine optimale Inaktivierungswirkung erzielt wird, wenn ein 50—100 prozent. Überschuß einer der drei Substanzen zum Patulin zugesetzt wird. Bei der Aufnahme von 100 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht können noch keine Schädigungen festgestellt werden. Bei 200 mg treten beim Patulin-Thiosulfat einige leichtere Symptome auf: drei Tage nach Versuchsbeginn vergilben die unteren Blätter der Versuchspflanzen leicht.

Alle drei Substanzen vermögen somit Patulin zu inaktivieren. Dagegen erweisen auch sie sich rein verabreicht als toxisch für die Pflanze, und zwar ungefähr in der gleichen Höhe wie Cystein-Hydrochlorid.

Ob diese drei anorganischen Substanzen mit Patulin jedoch gleich reagieren wie die Sulfhydrylverbindungen, oder ob es rein eine Frage ihres Reduktionsvermögens ist, muß den Chemikern zur Beantwortung überlassen werden.

4. Frage der Reversibilität eingegangener SH-Patulin-Bindungen

Im Fall von Sublimat scheint vermittelst der SH-Verbindungen nicht nur eine Inaktivierung möglich zu sein, sondern auch bis zu einem gewissen Grade eine Rückgängigmachung schon eingegangener Hg S-Proteine usw.-Verbindungen, also eine Art Entgiftung (ob der Hg S-Komplex jedoch tatsächlich rückgängig gemacht wurde, oder ob die Bakterien die Möglichkeit besitzen, neue SH-Verbindungen zu bilden, bleibt dabei offen).

Fildes (1940) konnte z. B. nachweisen, daß, wenn man Bakterien 4 Tage lang einer $2 \cdot 10^{-7}$ molaren HgCl_2 -Lösung ausgesetzt (genügend, um Bakterienwachstum zu unterdrücken) und erst dann SH- im Überschuß beifügt, das Bakterienwachstum wieder einsetzt. Werden Bakterien anderseits 17 Stunden einer $2 \cdot 10^{-6}$ molaren HgCl_2 -Lösung ausgesetzt und erst dann SH- beigefügt, so setzt kein Wachstum mehr ein. Fildes schließt daraus, daß die Wirkung der Hg-Verbindung durch den Einfluß der SH- innerhalb gewisser Grenzen reversibel sei.

Cavallito, Bailey und Mitarbeiter (1945) erhalten ähnliche Ergebnisse und nehmen an, daß das Ganze eine Gleichgewichtsfrage sei.

Von Patulin-S-Verbindungen schreibt Cavallito und Bailey (1944), daß die Inaktivierung eine irreversible sei.

Pflanzen sind für diese an und für sich interessante Frage ungeeignet. Für schwächere Konzentrationen als $10^{-3,5}$ molares Patulin spricht die Pflanze (in der für den Versuch zu Verfügung stehenden Zeit und mit den von uns angewandten Methoden) nicht mehr an. Bei höheren Konzentrationen sind die Schädigungen nach kurzer Zeit dermaßen, daß die entgiftenden SH-Verbindungen nicht oder nur noch in ungenügender Menge aufgenommen werden.

Es wurden z. B. Tomatensprossen 50 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht in Form einer $10^{-2,5}$ molaren Lösung verabreicht. Dauer der Aufnahme etwa 2 Stunden. Nachher Überführung in Brunnenwasser. Wird 5 Stunden nach Beginn der Patulinaufnahme 10^{-2} molares Metabisulfit verabreicht, so läßt sich der Welkeffekt nicht mehr beeinflussen. Läßt man das Patulin jedoch nur 2 Stunden einwirken, bevor man den Sproß in Metabisulfit stellt, so bemerkt man eine deutliche Abschwächung der Patulinwirkung. Bei Überführung nach einer Stunde Patulinwirkung (verwendet wurde diesmal 10^{-2} molares Patulin) in Metabisulfit, läßt sich die Vergiftung größtenteils verhindern.

An Hand von Modellversuchen Cystein + Überschuß an Patulin (führt zu negativem SH-Test) und nachträglichem Zufügen von Sulfit, konnte kein Freiwerden von SH-Gruppen nachgewiesen werden. Der Test blieb negativ.

Bei Pflanzen wird daher durch die nachträgliche Sulftgabe wahrscheinlich lediglich erreicht, daß das Patulin in den Gefäßbündeln inaktiviert wird, bevor es zur Wirkung mit den pflanzlichen Zellen kommt. Je schneller daher das Entgiftungsmittel mit Patulin reagiert, desto besser ist seine Wirkung.

V. Sulphydrylverbindungen in Pflanzen und ihre Blockierung durch Patulin

Bis jetzt wurde gezeigt, daß Patulin durch SH-Verbindungen entgiftet werden kann, nicht aber der Nachweis erbracht, daß auch tatsächlich in der Pflanze SH-Gruppen blockiert werden. An Hand des Phosphorwolframsäuretestes wurde daher als erstes versucht, möglichst quantitativ in der Pflanze Sulphydrylverbindungen nachzuweisen, um dann zweitens festzustellen, ob sich in Pflanzen, die unter dem Einfluß von Patulin gewelkt sind, ein Unterschied feststellen läßt.

1. Herstellung des Extraktes

Frisches Pflanzenmaterial, hauptsächlich junge, etwa 30 cm hohe Tomaten-sprosse werden in Gegenwart einer Lösung, bestehend aus 1n Trichloressigsäure in 2n Salzsäure unter Zuhilfenahme von Quarzsand zu einem Brei zerrieben, durch eine feinporige Gaze gepreßt und zentrifugiert. Die gesamte verwendete Säuremenge entspricht dem halben Frischgewicht des Pflanzen-materials.

Für die kolorimetrische Bestimmung ist es von Vorteil, wenn das Filtrat von jeglicher Trübung frei ist. Dies wird durch den Zusatz der eiweißfällenden Trichloressigsäure größtenteils erreicht.

Parallelversuche mit gleichen Konzentrationen einerseits HCl und andererseits Trichloressigsäure ergaben dieselben Ergebnisse. Durch die Ausfällung gewisser Eiweiße wäre es denkbar, daß damit auch SH-Eiweißkomplexe von der Bestimmung vorwiegendommen würden. Ein meßbarer Unterschied konnte jedoch nicht festgestellt werden.

Wird anderseits die zugesetzte Säuremenge vermindert (versuchsweise bis zu $1/50$ der beschriebenen Menge), so läßt es sich nicht vermeiden, daß ein Teil der SH-Verbindungen oxydiert. Der Gesamtwert, ausgedrückt zum Beispiel als Gesamt cystein = Cystein + Cystin) bleibt derselbe.

Zur weiteren Differenzierung wird der Extrakt nach Lugg mit Äther ausgeschüttelt. Es hat sich jedoch in der Folge gezeigt, daß die Äther-extraktion bei dem verwendeten Pflanzenmaterial das Ergebnis nicht merkbar beeinflussen konnte.

Auf diese Weise erhält man eine klare, meist etwas gelblich-bräunliche Flüssigkeit, die auch durch das Zusetzen der diversen Testlösungen keine Trübung mehr erhält.

2. Ergebnisse an frischem Pflanzenmaterial

Die nach der oben beschriebenen Methode gefundenen Werte werden als Cystein angegeben, berechnet auf 1 kg Frischgewicht der Pflanze.

In frischen Blättern (ohne Blattstiele) wurden Werte von 700 bis 1000 mg Cystein je Kilogramm Frischgewicht gefunden, in Stengeln inkl. Blattstielen 300—400 mg und in ganzen Pflanzen-sprossen 550—750 mg. Sämtliches Cystein lag in der reduzierten Form vor, d. h. es wurde kein Cystin gefunden.

Die Berechnung erfolgte an Hand eines Beispiels folgendermaßen:

Da bei der Herstellung des Extraktes die festen Substanzen der Pflanze (Zellulose, Gerüstsubstanzen usw.) ausgeschieden werden, vom SH-Gehalt des

Extraktes aber auf die ganze Pflanze geschlossen werden soll, nehmen wir der Einfachheit halber an, die Pflanze besitze 10% ausgeschiedene Substanzen. Subtrahieren wir also vom Frischgewicht des Tomatesprosses 10%, so erhalten wir seinen Extrakt. Die 10% wurden erhalten, indem aus der Arbeit von Gäumann und Jaag (1947), welche bei 8 Tomatenprossen den Trockenheitsanteil berechnet haben, das prozentuale Verhältnis ausgerechnet wurde (11,5%) und für gelöste Substanzen im Extrakt 1,5% abgezogen wurden.

Blätter:	23,0 g (abzüglich 10% =)
	20,7 g
Säurezusatz:	<u>11,5 g</u>
Extrakt:	<u>32,2 g (\cong ccm)</u>

1 ccm des Extraktes ergibt im Test 0,57 mg Cystein
1 ccm " " " " mit Sulfitzusatz 0,59 mg Cystein

Es ist praktisch kein Cystin vorhanden. Eine Extrakt-Testprobe, bei der einzige die Phosphorwolframsäure weggelassen wurde, wird beim Photometrieren als Vergleichslösung benutzt.

In den 32,2 ccm Extrakt sind total 18,5 mg Cystein enthalten, d. h. in einem Kilogramm frischer Blattsubstanz 810 mg Cystein. Der Kontrolltest mit $HgCl_2$ verlief negativ.

Ein weiterer Hinweis, daß es sich bei den ausgeführten Bestimmungen tatsächlich um SH-Gruppen handelt, lieferte folgender Versuch:

Frischer Extrakt (mit positivem Test) wird mit NaOH leicht alkalisch gemacht (pH etwa 8). Darauf wird kurze Zeit Luft durchgeblasen. Zum Testen wird er wieder mit HCl auf pH 5,7 gebracht. Der Test fällt negativ aus. Wird hingegen derselbe Test mit Sulfitzusatz ausgeführt, so tritt blaue Färbung auf. Das würde heißen, daß in dem alkalischen, belüfteten Extrakt die SH-Verbindungen zu -S-S-Verbindungen oxydierten (negativer Test) und dann durch die Sulfitzugabe wieder reduziert wurden (positiver Test).

Es muß jedoch noch einmal betont werden, daß bei diesem Test einzige die SH-Gruppen bestimmt werden. Über die Art der Verbindung wird gar nichts ausgesagt. Da das Cystein eine der bekanntesten und einfachsten SH-Verbindungen ist, haben wir die Ergebnisse für Cystein umgerechnet.

3. Ergebnisse an Pflanzen, welche Patulin aufgenommen haben

In diesem Abschnitt soll vor allem versucht werden, den SH-Spiegel von zwei Pflanzengruppen mit möglichst gleich großem und gleich altem Ausgangsmaterial zu vergleichen: in der einen Gruppe gesunde, frische Sprosse, in der andern mit Patulin gewelkte.

Als erstes werden 5 etwa 20 g schwere, frische Sprosse extrahiert und auf ihren SH-Gehalt untersucht. Dabei wurden folgende Werte erhalten (Milligramm Gesamtcystein je Kilogramm Frischgewicht): 570 mg, 570 mg, 680 mg, 740 mg, 670 mg,

im Durchschnitt: 650 mg Gesamtcystein je Kilogramm Frischgewicht.

In der zweiten Gruppe werden 5 gleiche Sprosse während 15—20 Stunden in 10^{-2} molares Patulin gestellt. Sie nehmen dabei 700—1000 mg je Kilogramm Frischgewicht auf. 24 Stunden nach Beginn der Patulinaufnahme werden sie extrahiert und der SH-Test ausgeführt. Die Ergebnisse lauten folgendermaßen (Milligramm Gesamtcystein je Kilogramm Frischgewicht):

340 mg, 380 mg, 300 mg, 400 mg, 310 mg,
im Durchschnitt: 350 mg Gesamtcystein je Kilogramm Frischgewicht, wobei bis zu $\frac{1}{3}$ der Menge als Cystin vorlag.

Die mit Patulin behandelten Pflanzen wiesen alle einen Gewichtsverlust von 20—30% auf, welcher durch destilliertes Wasser ersetzt wurde. Um auch diesen Einfluß zu kontrollieren, wurde ein gesunder Sproß 20 Stunden ohne Wasser gehalten. Er verlor dabei 25% seines Gewichtes, welches wie bei den mit Patulin behandelten Pflanzen durch Wasser ersetzt wurde. Extraktion und folgender Test zeigten, daß noch sämtliche SH-Verbindungen vorlagen, und zwar in der reduzierten Form.

Abschließend kann zu diesen Versuchen gesagt werden: Patulin in möglichst großer Menge verabreicht, vermag in der Pflanze etwa 300 mg SH-Verbindungen (ausgedrückt als Cystein) je Kilogramm Frischgewicht zu blockieren, was ungefähr 50% aller erfaßten Verbindungen betrifft.

4. Versuche mit Pflanzenextrakt, behandelt mit Patulin

Ursprünglich war unser erstes Ziel — analog den Modellversuchen mit Cystein und Patulin — dem Pflanzenextrakt Patulin beizufügen und auf diese Weise die SH-Gruppen zu blockieren.

Die Schwierigkeiten, die beim Modellversuch auftraten, wurden auf S. 384 besprochen. Im Pflanzenextraktversuch glückte uns wohl die Inaktivierung der SH-Gruppen durch $HgCl_2$, jedoch nie zufriedenstellend diejenige durch Patulin.

Ein weiterer Grund unseres Mißerfolges ist sicher auch in der komplexen Natur des Pflanzenextraktes zu suchen.

Wir gaben deshalb die Versuche auf, ohne zu einem schlüssigen Ergebnis gekommen zu sein.

VI. Die Inaktivierung von Patulin in der Pflanze

In der Art, wie bis dahin versucht worden ist, in der Pflanze den Verlust von SH-Gruppen, hervorgerufen durch den Einfluß von Patulin, nachzuweisen, soll im folgenden versucht werden, die Menge Patulin zu bestimmen, die in der Pflanze inaktiviert werden kann unter Berücksichtigung verschiedener Einwirkungszeiten und Aufnahmemengen.

Methode

Ein Pflanzensproß, der 10^{-2} molares Patulin aufgenommen hat, wird mit etwas Quarzsand zu einem Brei verrieben, aus welchem gleich wie bei einem Pilz-Kulturfiltrat das Patulin möglichst quantitativ zurückgewonnen wird. Der Brei wird bis zur Sättigung mit NaCl versetzt, worauf je dreimal die

doppelte Menge Essigester zugesetzt, ausgeschüttelt, zentrifugiert und abpipettiert wird. Die drei Essigesterfraktionen vereinigt man und läßt sie im Vakuum abdestillieren. Zurück bleibt das Patulin neben viel chlorophyllartigen usw. Verunreinigungen. Zum Rückstand wird eine bekannte Menge Wasser gegeben, in welcher sich das Patulin wieder löst. Alles, was wir jetzt noch wissen müssen, ist die Patulinkonzentration dieser Lösung. Hier führt ein relativ einfacher und genauer biologischer Test zum Ziel: der Filterpapierscheibentest gegen *Escherichia coli* auf Nähragarplatten. Das Prinzip ist folgendes: Auf Agarplatten, beimpft mit *Escherichia coli*, gibt man Filterpapierscheibchen einheitlicher Größe, die in verschiedene, bekannte Patulinlösungen getaucht worden sind. Die Platten werden darauf 12 Stunden bei

37°C inkubiert. Während dieser Zeit hatte einerseits das Patulin Zeit, aus dem Filterpapier in den Agar zu diffundieren und andererseits vermehren sich die Bakterien. Dabei entsteht ein wachstumsfreier Hof um das Filterpapier, dessen Durchmesser abhängig ist von der Patulinkonzentration (vgl. Abb. 12). Trägt man die „Konzentration“ logarithmisch auf, so resultiert als Funktion von „Konzentration“ und „Durchmesser der Hemmungszone“ eine Gerade. Um die Gerade zu bestimmen, müssen daher mindestens zwei bekannte Lösungen getestet werden. Ist nun bei der unbekannten Testlösung der Durchmesser der Hemmungszone bekannt, zweitens die Gerade bestimmt, so läßt sich die unbekannte Konzentration ablesen und daraus die Menge des rückisolierten Patulins errechnen.

Beizufügen ist, daß beim Extrahieren einer gesunden Pflanze im Essigesterrückstand keine Substanzen aufgetreten sind, die in Wasser gelöst im Bakterientest eine Hemmungszone bewirkt haben könnten.

Resultate

Die Ergebnisse an Hand des Pflanzenmaterials ersieht man aus Abb. 13. Das heißt: Die Pflanze besitzt die Fähigkeit, eine bestimmte Menge Patulin (300—400 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht) zu inaktivieren, was ungefähr dem auf S. 390 gefundenen SH-Verlust in Pflanzen unter Patulineinfluß

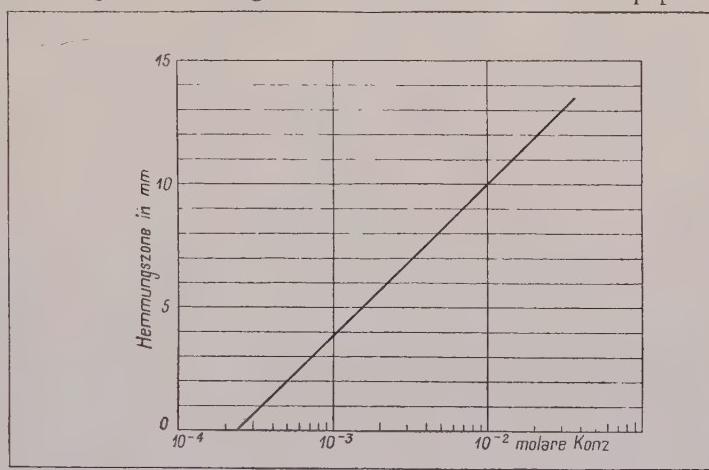


Abb. 12
Abhängigkeit von Patulinkonzentration (logarithmisch aufgetragen) und Bakterienwachstum (Hemmungszone)

entspricht, wenn man annimmt, daß 1 Molekül Patulin 1 SH-Radikal bindet. Nimmt die Pflanze weniger Patulin auf, so läßt sich nichts mehr zurückisolieren (auf Abb. 13: Kreis mit Punkt darin). Alles, was sie hingegen mehr aufnimmt, wird zurückgewonnen, und zwar unabhängig von der Einwirkungszeit. Ein enzymatischer Abbau des Patulins scheint daher — meßbar innerhalb 30 Stunden — nicht stattzufinden. Da die Pflanze während dieser Zeit gänzlich welkt, kann der Versuch nicht weiter ausgedehnt werden.

In diesem Zusammenhang sei noch einmal die Frage aufgegriffen: „Ist es möglich, daß Patulin das Redoxpotential in der Pflanze stört?“

Wie wir gesehen haben, können in Tomatensprossen etwa 300 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht inaktiviert werden. Um die Pflanze andererseits

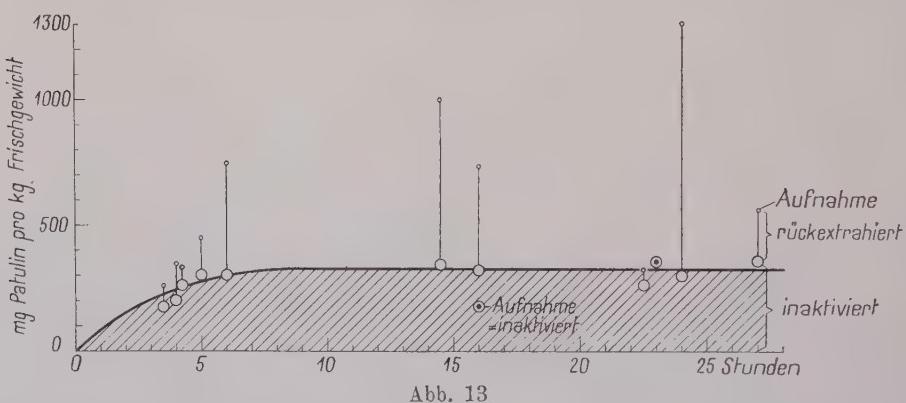


Abb. 13
Das Patulin-Inaktivierungsvermögen eines Tomatensprosses

gesamthaft zum Welken zu bringen, fanden wir in der dritten Welkestufe (S. 372) ein notwendiges Minimum von 200 und mehr Milligramm Patulin je Kilogramm Frischgewicht. Das Verhältnis „notwendige Giftmenge, um sämtliche Zellen je Kilogramm Frischgewicht zum Absterben zu bringen“ zu „maximale Giftaktivierungskapazität der Zellen je Kilogramm Frischgewicht“ liegt also sehr nahe beisammen. Wenn vermittelst des Phosphorwolframsäuretestes in der Pflanze ferner doppelt soviel SH-Gruppen nachgewiesen werden, als durch Patulin inaktiviert werden können, so läßt sich daraus schließen, daß die durch das Patulin nicht inaktivierten SH-Gruppen weniger reaktionsbereit sind, komplexeren Verbindungen angehören und deshalb wahrscheinlich auch weniger am Redoxpotential beteiligt sind.

Es ist unseres Erachtens daher sehr wahrscheinlich, daß in der Pflanze das Redoxpotential durch den Einfluß des Patulins (Blockierung der SH-Gruppen) gestört wird, wenngleich der Beweis dafür erst durch das Experiment geleistet wird.

E. Der photische Effekt

Daß Patulin ähnlich wie Lycomarasmin im Dunkeln nicht ganz gleich auf Pflanzen wirkt wie im Licht, wurde schon von Gäumann und Jaag

(1947) beschrieben. Bei den in diesem Zusammenhang von uns durchgeföhrten Versuchen handelt es sich nun hauptsächlich darum, abzuklären, welcher Art der Welkunterschied bei Pflanzen ist, die im Licht und bei solchen, die im Dunkeln dieselbe Giftmenge aufgenommen haben. Weiter wurde die auf S. 372 bestimmte minimale Giftmenge, die noch zu eindeutigen Symptomen (bei Tageslicht) führt, verwendet, um möglichst auch quantitative Unterschiede feststellen zu können.

Es wurden daher je 3 Pflanzen im Dunkeln und 3 Pflanzen im Tageslicht veranlaßt, genau 20 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht als 10^{-3} molares Patulin aufzunehmen, was vermittelst des Potetometers leicht möglich war.

Die Wirkungsweise ersieht man am besten durch den Vergleich der beiden Gruppen in der Gegenüberstellung:

Std. nach Versuchs- beginn	a) Licht	Std. nach Versuchs- beginn	b) Dunkel
24	Kaum wahrnehmbare Streifen an Stengel. An einigen Blattstielen kurze Rillen.	24	Der größere Teil bis sämtliche Blattspreiten beginnen zu welken (Blätter schlaff, ledrig).
48	Dasselbe. Unterste Blattstielansatzstellen an 2 Pflanzen etwas weniger turgeszent.	48	Dasselbe ausgeprägter.
72	Welken der Stengelpartien ausgeprägter. Einige Blattstiele geknickt. Gipfelsproß beginnt zu erschlaffen. Blättchen rollen sich ein. Fiederblätter der unteren Blätter ohne besondere Symptome eigenartig starr. Ein erschlaffter Gipfelsproß wird abgeschnitten und in Wasser gestellt, wo er sich bald erholt (vgl. Abb. 14).	72	Die Blattspreiten der <ol style="list-style-type: none"> 1. Pflanze: alle stark weich, 2. Pflanze: alle angewelkt, 3. Pflanze: nur Blattspreiten der unteren $\frac{2}{3}$ der Pflanze sind angewelkt bis dürr. Relativ schwache Rillenbildung an den Stengeln, weniger an den Blattstielen. Turgor an Stengeln und Blattstielen normal (vgl. Abb. 15).

4 Tage nach Versuchsbeginn zeigte die Untersuchung der Stengelquerschnitte, daß in dieser Beziehung kein wesentlicher Unterschied in der Welkewirkung besteht. Die Stengel, die äußerlich oft ganz intakt schienen (besonders bei den Pflanzen aus dem Dunkeln), sind unter der Rinde teilweise ausgehöhlt. Durch mikroskopische Untersuchung des Stengelsaftes konnte festgestellt werden, daß eine äußerst vielfältige Mikrobenflora am Werk ist, welche sekundär die abgestorbenen Pflanzenzellen auflöste.

Allgemein fällt auf, daß sich die Welksymptome, die während der ersten 48 Stunden den bei der Bestimmung der Dosis minima erhaltenen entsprechen, in der Folgezeit verschärfen. Es mag dies damit zusammenhängen, daß diese Versuche im Dezember mit allgemein schwächeren und weniger lebenskräftigen Pflanzen durchgeföhr worden sind.

Wahrscheinlich ist auch das Mikrobenwachstum in den von Patulin angegriffenen Gefäßbündeln (was früher nicht beobachtet wurde) auf ein verminderter Resistenzvermögen der Pflanze zurückzuführen. Auf alle Fälle jedoch geht daraus hervor, daß das Gift in den Leitbündeln neutralisiert ist,

da sonst bei der angewandten Patulinkonzentration kein Mikrobenwachstum mehr möglich wäre.

Im besonderen läßt sich festhalten:

1. Die Welkewirkung einer kleinen Giftgabe 10^{-3} molaren Patulins manifestiert sich im Dunkeln schneller als im Licht.
2. Es besteht ein offensichtlicher qualitativer Unterschied zwischen dem Welkeffekt bei Licht und im Dunkeln. Im Dunkeln werden die Blattspreiten besonders angegriffen, bei Licht kaum, oder wie wir früher gesehen haben, erst bei der Verwendung höherer Konzentrationen und größerer Giftmengen.

Diese größere Bereitschaft der Tomatenblätter im Dunkeln mit Patulin zu welken, scheint jedoch in einem gewissen Zusammenhang mit den Sulphydrylverbindungen zu stehen.

Eigenartigerweise konnte festgestellt werden, daß ein Teil der SH-Gruppen, die normalerweise in der reduzierten Form vorliegen, bei Tomatensprossen, die 24 und mehr Stunden im Dunkeln gestanden haben (mit und ohne Wurzeln), allmählich in die Disulfid-Form übergehen. Nach ungefähr 3 Tagen sind noch etwa 50 % der SH-Gruppen reduziert, der Rest ist oxydiert. Tiefer Werte wurden nie, auch in den folgenden Tagen nicht gefunden. (Nach 3—4 Tagen fangen die Tomatensprosse bekanntlich ja auch ohne Patulin im Dunkeln an zu welken.)



Abb. 14

2 Tomatensprosse, die im Licht 20 mg Patulin je Kilogramm Frischgewicht aufgenommen haben, 3 Tage nach Versuchsbeginn. Der gesunde Sproß rechts ist der Gipfelsproß der mittleren Pflanze. Bei dieser fallen besonders die beiden verschiedenen Welkearten auf: untere Blätter in dem eigenartigen Starrezustand z. T. an gewelkten Stengeln durch Patulin bedingt; obere Blätter leicht eingerollt, erscheinen auch matter, welken physiologisch wegen Wassermangel, weil das Xylem in den welken Stengeln nicht mehr funktionsfähig ist. Beweis dafür: der abgeschnittene Gipfelsproß erholt sich wieder. (Photographisches Institut E.T.H.)

Patulin scheint daher, wenn der Wirkungsmechanismus auch ein gänzlich anderer ist, die gleiche Wirkung auf die Pflanze auszuüben wie lange Dunkelheit, indem also die normal reduzierten SH-Gruppen zu oxydierten -S-S-Gruppen verwandelt werden. Dies ist gleichbedeutend mit blockierten -S-Patulin-Gruppen, denn ohne Licht können die -S-S-Gruppen nicht wieder



Abb. 15

Derselbe Versuch wie Abb. 14, aber im Dunkeln. Der Turgor in Stengel und Blattstielen ist noch erhalten. Die Blattspreiten sind fast sämtlich gewellt. (Photographisches Institut E.T.H.)

reduziert werden. Auf diese Weise kumulieren sich Patulin und Dunkelheit, was sich besonders bei den Blattspreiten, die die hauptsächlichen Träger der SH-Verbindungen sind, auswirkt. Licht hemmt also nicht die Patulinwirkung (denn es ist ja normal, daß die SH-Verbindungen reduziert sind), hingegen fördert längeres Fehlen von Licht das Welken (kumulierende Wirkung mit Patulin).

Dadurch jedoch, daß bei unkontrollierter Wasser- (was gleichbedeutend ist mit Gift-) Aufnahme die Pflanze im Licht in der gleichen Zeit bedeutend mehr aufnimmt (stomatäre + kutikulare Transpiration) als im Dunkeln (nur kutikulare Transpiration), kann dieses Ergebnis stark verwischt oder sogar ins Gegenteil umgekehrt werden.

F. Zusammenfassung

Patulin (Clavatin), ein Antibiotikum, das aus verschiedenen Pilzen (*Penicillium*, *Aspergillus*) gewonnen werden kann, ist ein starkes, rasch wirkendes, ziemlich unspezifisches Plasmagift. In pflanzlichen Zellen, mit denen es in Berührung kommt, hört schon nach sehr kurzer Zeit — als erstes wahrnehmbares Symptom — die Brown'sche Molekularbewegung der Chondriosomen auf, was für eine Viskositätserhöhung des Plasmas spricht (Frage der koagulierenden Wirkung des Patulins). Erst später hört auch das Fließen des Plasmas auf. Die Zelle stirbt. Das Xylem (durch das das Patulin in Tomatensprossen geleitet wird) und die umgebenden Partien weisen deshalb bei Verabreichung kleinerer Giftmengen als erste nekrotische Erscheinungen auf (Rillen am Stengel). Dabei hat sich gezeigt, daß die minimale Giftmenge (je Kilogramm Frischgewicht), die sogenannte „Dosis minima“, um einen eindeutigen Welkeffekt in der Pflanze zu erzeugen, bei hoher Konzentration kleiner ist als bei tiefer. Erst bei Verabreichung von größeren Giftmengen findet man auch in den Blattspreiten Nekrose.

In bezug auf seine chemische Reaktionsweise weiß man, daß Patulin gegenüber Bakterien durch SH-Verbindungen inaktiviert wird. Entsprechendes fanden wir bei Pflanzen, wobei wir auch mit den anorganischen, reduzierenden Substanzen Na-Thiosulfat, Na-Metabisulfit und Na-Sulfit gleiche Ergebnisse erhielten. Mit dem Folin'schen Phosphorwolframsäuretest, verbessert durch Lugg, gelang es nachzuweisen, daß in Tomatensprossen durch Patulin ungefähr 50 % aller SH-Verbindungen inaktiviert werden kann (durch $HgCl_2$, hingegen sämtliche). Umgekehrt konnte gezeigt werden, daß dabei ungefähr die äquivalente Menge Patulin blockiert wird, wenn man annimmt, daß ein SH-Radikal ein Molekül Patulin bindet.

Bei Pflanzen, welche länger als 24 Stunden im Dunkeln stehen, wird ein Teil der SH-Gruppen oxydiert. Die Wirkung von im Dunkeln verabreichtem Patulin und das Fehlen von Licht, welches Oxydation von SH-Gruppen bewirkt, scheint sich zu kumulieren: wird bei Licht und im Dunkeln eine gleiche Giftmenge (Dosis minima) verabreicht, so welkt die Pflanze im Dunkeln stärker.

Welcher Art im Detail die Wirkung des Patulins ist, ob das Redoxpotential der Pflanze gestört wird, oder ob essentielle SH-haltige Enzyme ausgeschaltet werden, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Literaturverzeichnis

- Birkinshaw, J. H., Michael, S. E., Bracken, A., Raistrick, H., 1943. Patulin in the common cold. II. Biochemistry and chemistry. (Lancet **245**, 625–630, 1943).
- Brian, P. W., Jamieson, M., Mc Gowan, J. C., 1948. Toxicity of sulphhydryl compounds to seeds. (Nature **162**, 780, 1948.)
- Cavallito, C. J., 1946. Relationship of thiol-structure to reaction with antibiotics. (Journ. Biol. Chem. **164**, 29, 1946.)
- Cavallito, C. J. and Bailey, J. H., 1944. Preliminary note on the inactivation of antibiotics. (Science **100**, 390, 1944.)
- Cavallito, C. J., Bailey, J. H., Haskell, T. H., McCormick, J. H. and Warner, W. F., 1945. The inactivation of antibacterial agents and their mechanism of action. (Journ. Bact. **50**, 61, 1945.)

- Cavallito, C. J., Bailey, J. H. and Kirchner, F. K., 1945. The antibacterial principle of arctium minus. (Journ. Am. Chem. Soc. **67**, 948, 1945.)
- Cavallito, C. J. and Haskell, T. H., 1945. The mechanism of action of antibiotics. (Journ. Am. Chem. Soc. **67**, 1991, 1945.)
- Fildes, P., 1940. The mechanism of the antibacterial action of mercury. (Brit. Journ. Exp. Path. **21**, 67, 1940.)
- Folin, O. and Marenzi, A. D., 1929. The preparation of uric acid reagent completely free from phenol reagent. (Journ. Biol. Chem. **83**, 109, 1929.)
- Folin, O. and Trimble, H., 1924. Improvements in the quality and method of preparing the uric acid reagent. (Journ. Biol. Chem. **60**, 473, 1924.)
- Frey-Wyssling, A., 1945. Ernährung und Stoffwechsel der Pflanzen. Büchergilde Gutenberg, Zürich.
- Gäumann, E., 1948. Über den Mechanismus des infektiösen Welkens. (Biol. Zentr. Blatt **67**, 22—26, 1948.)
- Gäumann, E. und Jaag, O., 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. (Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 5, 132, 227, 1947.)
- Gäumann, E., Jaag, O. und Brauhn, R., 1947. Antibiotika als pflanzliche Plasmagifte I. (Exper. **3**, 70, 1947.)
- Gäumann, E. und von Arx, A., 1947. Antibiotika als pflanzliche Plasmagifte II. (Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 174—183, 1947.)
- Geiger, W. B., 1948. Antibacterial unsaturated ketones and their mode of action. (Arch. Bioch. **16**, 423, 1948.)
- Geiger, W. B. and Conn, J. E., 1945. The mechanism of the antibiotic of clavatin and penicillie acid. (Journ. Am. Chem. Soc. **67**, 112, 1945.)
- Lugg, J. W., 1932. The application of phospho-18-tungstic acid (Folins-reagent) to the colorimetric determination of cysteine, cystine and related substances. (Biochem. Journ. **26**, 2144, 1932.)
- Plattner, P. und Clauson-Kaas, N., 1945. Über Lycomarasmin, den Welkstoff aus *Fusarium lycopersici* Sacc. (Exper. **1**, 195, 1945.)
- Rinderknecht, H., Ward, J. L., Bergel, F. and Morrison, A. L., 1947. Studies on antibiotics. (Biochem. Journ. **41**, 463, 1947.)
- Strugger, J., 1935. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin, 1935.
- Winterstein, A., 1933. Aminosäuren. H. B. der Pflanzenanalyse IV/I, S. 1. Springer, Wien, 1933.
- Woodward, R. B. and Singh, G., 1949. The Structure of Patulin. Journ. Am. Chem. Soc. **71**, 758.

In Band XVI, Heft 4, das im Mai d. J. erscheint, kommen voraussichtlich folgende Arbeiten zum Abdruck:

- Nöll, A., Über anomale Kieselsäureablagerungen bei Gelbrostinfektion (*Puccinia glumarum*) des Weizens
Müller-Stoll und Dick, Über den Cytospora-Krebs der Pappel (*Valsa sordida* Nitschke) und die Bedingungen für eine parasitäre Ausbreitung
Ballarin, C., Untersuchungen über *Helminthosporium papaveris*.
Meyer, H., Über den Einfluß von Cadmium auf die Krankheitsbereitschaft des Weizens usw.
Gäumann, E., Über den Einfluß der Bodentemperatur auf die Symptomausprägung bei der Blattrollkrankheit

Kurze Mitteilungen:

- Mulder, D., Der Zinkmangel im europäischen Obstbau
Kastendieck, M., Rosettenkrankheit und Boden

Im Januar 1950 erschien:

B R A U N - R I E H M

Krankheiten und Schädlinge der landwirtschaftlichen und gärtnerischen Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

6. völlig neubearbeitete Auflage herausgegeben von

Dr. H. BRAUN

o. Professor und Direktor des Instituts für
Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

352 Seiten mit 243 Textabbildungen, Halbl. geb. mit
2 farb. Schutzumschlag 22,— DM, kart. 20,— DM

Die in großen Teilen völlig neubearbeitete 6. Auflage des Buches konnte durch die Vereinigung in einer Hand einheitlicher den Erfordernissen der Ausbildung angepaßt werden. Größter Wert ist auf möglichst erschöpfende Beschreibung der Krankheitssymptome gelegt worden, um mit Unterstützung der Bestimmungsschlüssel auch dem Nichtfachmann die richtige Diagnose zu erleichtern. Dem gleichen Zweck dient die Einfügung neuer, besonders charakteristischer Aufnahmen einer ganzen Anzahl von Schadensbildern, die bisher gar nicht oder unbefriedigend illustriert waren. Auf der anderen Seite ist durch eingehende Erörterungen der krankheitsbegünstigenden Umweltbedingungen ein besseres Verständnis für den Wert der Hygiene angestrebt worden, die stets die Grundlage im Kampf gegen Krankheiten und Schädlinge bilden muß. Wer noch tiefer in die oft verwickelten Zusammenhänge eindringen möchte, den leitet die nahezu verdoppelte Anzahl von Literaturhinweisen auf den richtigen Weg. Sie sind so gewählt, daß einmal die neuesten Arbeiten Berücksichtigung gefunden haben und zum anderen solche bevorzugt herangezogen worden sind, die selbst wieder umfassende Literaturzusammenstellungen bringen.

VERLAG PAUL PAREY BERLIN UND HAMBURG

Soeben erschienen:

Die Züchtung des Weizens

Von Prof. Dr. K. ISENBECK † und Dr. K. v. ROSENSTIEL

(Sonderausgabe aus „Handbuch der Pflanzenzüchtung“)

244 Seiten mit 24 Textabbildungen. Brosch. 22,— DM

Die überragende Bedeutung der Weizenzüchtung gab Veranlassung, dieses Kapitel des im Erscheinen begriffenen Handbuchs der Pflanzenzüchtung durch eine besondere Ausgabe weiteren Kreisen verfügbar zu machen, für die die Anschaffung des Gesamtwerkes nicht möglich ist. Die Darstellung ist in sich abgeschlossen.

PAUL SORAUER

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

IV. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, I. Teil**

5. Auflage (2 Lieferungen)

Unter Mitwirkung hervorragender Fachwissenschaftler
herausgegeben von Prof. Dr. H. BLUNCK, Bonn

Lieferung 1, 427 Seiten mit 210 Textabbildungen. Brosch. 38,— DM

Inhalt: Thate, R., Protozoa, Urtiere. — Goffart, H., Nematodes, Fadenwürmer. — Goffart, H., Annelida, Ringelwürmer. — Tomaszewski, W., Mollusca, Weichtiere. — Kaufmann, O., Arthropoda, Gliederfüßer. — Thate, R., Crustacea, Krebstiere. — Schubart, O., Myriapoda, Tausendfüßer. — Zacher, F., Arachnoidea, Spinnentiere. — Kaufmann, O., Hexapoda, Insekten. — Tomaszewski, W., Apterygota. — Tomaszewski, W., Odonata, Libellen. — Friederichs, K., Embioptera, Spinnfüßer. — Zacher, F., Orthopteroidea, Geradflügler. — Weidner, H., Isoptera, Termiten, Weiße Ameisen. — Weidner, H., Psocoidea. — Blunck-Neu, Thysanopteroidea (Physopoda), Fransenflügler, Blasenfüße.

Die 2. (Schluß-) Lieferung wird unter anderem den umfangreichen Abschnitt über die Lepidopteren (Schmetterlinge) enthalten und im Frühjahr 1951 erscheinen.

Der Erwerb der 1. Lieferung verpflichtet zur Abnahme der 2. (Schluß-) Lieferung.

Das in der ganzen Welt maßgebende Standardwerk der Pflanzenkrankheiten und des Pflanzenschutzes. Eine während des Krieges in Vorbereitung befindliche Neuauflage dieses Bandes wurde vernichtet. Nach langem Fehlen wird dieselbe daher dringend erwartet.

VERLAG PAUL PAREY BERLIN UND HAMBURG

BAND 16, HEFT 4

MAI 1950

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand,
Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto,
Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge,
Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest,
Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. G. Gaßner
Braunschweig

und

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich



Mit 43 Abbildungen

1950

VERLAG PAUL PAREY

Phytopath. Z., Bd. 16, Heft 4 S. 399—514, Bln. 1950

INHALT

Abhandlungen

Ballarin, Claus, Untersuchungen über <i>Helminthosporium papaveris</i> . (Mit 25 Abb.)	399
Müller-Stoll, W. R. und Hartmann, Ursula, Über den <i>Cytospora</i> -Krebs der Pappel (<i>Valsa sordida</i> Nitschke) und die Bedingungen für eine parasitäre Ausbreitung. (Mit 16 Abb.)	443
Gäumann, Ernst, Über den Einfluß der Bodentemperatur auf die Symptomausprägung bei der Blattrollkrankheit der Kartoffeln	479
Noll, A., Über anomale Kieselsäureablagerungen bei Gelbrostinfektion (<i>Puccinia glumarum</i>) des Weizens. (Mit 2 Abb.)	483
Bereks, R., Fortgeföhrte serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen	491

Kurze Mitteilungen

Bereks, R., Über die Konservierung von Kartoffel-X-Virus durch Glycerin	508
Mulder, D., Der Zinkmangel im europäischen Obstbau	510
Kastendieck, M., Rosettenkrankheit und Boden	511

Besprechungen

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen“ sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen“ erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1, und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen“ entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstr. 44—47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.

Zusendung der „Besprechungen“ unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen“ beträgt 32,— M. je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei. Honorar für die „Besprechungen“ 48,— M. je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Jährlich erscheinen 6 Hefte, deren 4 zu einem Band vereinigt werden.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 2,— M. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Untersuchungen über *Helminthosporium papaveris*

Von

Claus Ballarin

Inhalt: 1. Einleitung. 2. Zur Nomenklatur des Pilzes. 3. Morphologische Einzelheiten: a) Konidien; b) Konidienträger; c) Myzel; d) Stromata und Fruchtkörper. 4. Die systematische Stellung und Reichweite des Pilzes. 5. Bildung und Keimung der Konidien. 6. Verhalten des Pilzes in künstlicher Kultur: a) Myzelentwicklung; b) Entwicklung der Konidienträger; c) Oidien- und Chlamydosporenbildung; d) Stromabildung; e) Einfluß der Substratreaktion auf die Entwicklung des Pilzes. 7. Ernährungsphysiologische Versuche: a) Hungerkulturen; b) Mineralsalzernährung; c) Kohlenstoffernährung; d) Wachstum auf Dekokten von Mohnpflanzenteilen. 8. Feststellung und Beurteilung des Pilzbefalls in Feldversuchen. 9. Wasser- und Nährstoffversorgung in ihrer Bedeutung für das Auftreten der Erkrankung: a) Randwirkung; b) Standraumversuche; c) Anbau mit Unterfrucht. 10. Einfluß von Saatzeit und Witterung. 11. Über die Ertragsminderung durch *Helminthosporium*. 12. Literaturverzeichnis.

1. Einleitung

In den letzten Jahren hat eine Erkrankung unseres Mohns steigende Beachtung gefunden, die von Reinmuth (1942, 1943) parasitäre Blattdürre genannt ist. Allerdings umfaßt diese Bezeichnung durchaus nicht alle Symptome; nach Gassner (1948) ist es im Hinblick auf die Verschiedenheit des Krankheitsbildes schwer, der Krankheit einen einheitlichen und treffenden Namen zu geben. Der Erreger ist ein Pilz, der seit langem als Schädling der Mohnpflanze und als Saprophyt auf verrottenden Stengeln bekannt ist. Er wurde jedoch erst von Christoff (1930) einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Diese Arbeit ist in bulgarischer Sprache erschienen und bei uns nur sehr wenig bekannt, sie wird deshalb im Rahmen unserer eigenen Ausführungen entsprechend berücksichtigt werden. In den neueren Untersuchungen von Gassner (1948) wird vor allem auf die Frage der Verbreitung des Pilzes sowie auf die Bekämpfungsmöglichkeit durch Beizung näher eingegangen. Indessen sind wir auch heute noch über den Pilz und seine Ernährungsansprüche, über seine Verbreitung im Felde und vor allem über die Abhängigkeit des Auftretens der Krankheit von äußeren Bedingungen nicht genügend unterrichtet. Auch die systematische Stellung des Erregers scheint nicht endgültig geklärt.

Die Arbeiten wurden im Botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig unter Leitung Herrn Professor Dr. Gassners ausgeführt. Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer für seine Anregungen und die liebenswürdige, stete Unterstützung herzlich zu danken. Ebenso bin ich Herrn Reg.-Rat Dr. Rabien für die Förderung meiner Feldversuche und Herrn Wiss.-Rat Dr. Hassebrauk für manchen wertvollen Hinweis zu großem Dank verpflichtet.

2. Zur Nomenklatur des Pilzes

An erkrankten Mohnpflanzen wird stets nur die Nebenfruchtform unseres Pilzes beobachtet. Sie erscheint in der Literatur unter verschiedenen Namen:

Autor	Fundort	Bezeichnung
1838 Corda ¹⁾		<i>Brachycladum penicillatum</i> (Corda)
1849 Fries ¹⁾		<i>Dendryphium penicillatum</i> (Corda) Fries
1907 Hennig	Daressalam	<i>Helminthosporium papaveris</i> (Hennig)
1908 (fehlt) ²⁾	Sadowo	<i>Dendryphium penicillatum</i> (Corda) Fries
nach 1908 Külümow ²⁾	Mazedonien	
1918 Sawada ²⁾	Formosa	<i>Helminthosporium papaveri</i> K. Sawada
1921 Iwanow ²⁾	Bulgarien	<i>Dendryphium penicillatum</i> (Corda) Fries
1928 Girzitska	Rußland	" " " "
1929 van Poeteren	Holland	" " " "
1930 Christoff	Bulgarien	<i>Helminthosporium papaveri</i> Sawada
1933 van Poeteren	Holland	<i>Dendryphium penicillatum</i> (Corda) Fries
1935 Barbacka	Polen	<i>Helminthosporium papaveris</i> Sawada
1938 Neergaard	Dänemark	" " " "
1942 Reimnuth	Deutschland	" " " Sawada
1948 Gassner	"	" " " Hennig

Aus der Zusammenstellung geht hervor, daß der Pilz als *Dendryphium penicillatum* und als *Helminthosporium papaveris* oder *papaveri* bezeichnet wird. Der ältere Name, unter dem der Schädling auch von den ersten bulgarischen Autoren beschrieben wird, ist *Dendryphium penicillatum*, während Christoff von *Helminthosporium papaveri* spricht. Die Bezeichnung *Helminthosporium papaveri* stammt von Sawada (1918) und sollte aufgegeben werden, da die von Hennig 1907 geprägte — *Helminthosporium papaveris* — unzweifelhaft die ältere darstellt. Die Entscheidung, ob der Pilz als ein *Dendryphium* oder als ein *Helminthosporium* anzusehen ist, ist schwer zu fällen. Beide Gattungen sind sehr nahe verwandt. Christoff hat sich für *Helminthosporium* entschieden und begründet dies in dem bulgarischen Text wie folgt: „Aus infizierten Kapseln und Samen, die von der Versuchsstation in Russtschuk erhalten wurden, wo der Parasit als *Dendryphium* bestimmt worden war, wurde der Erreger isoliert; es stellte sich heraus, daß er zu den *Fungi imperfekti* und zur Gattung *Helminthosporium* als *Helminthosporium papaveri* Sawada gehört. Trotz der zahlreichen Beobachtungen und Isolierungen in vier Jahren ist bisher bei uns an der Mohnpflanze kein *Dendryphium* gefunden worden.“

Darüber, daß es sich nur um einen Pilz handelt, kann auf Grund der vorliegenden Literaturangaben kein Zweifel sein. Nur Pape (1939) erwähnt *Dendryphium* neben *Helminthosporium* als Krankheitserreger am Mohn. Wenn wir von einer Mitteilung van Poeterens absehen, sprechen alle neueren Autoren (Barbacka 1935; Neergaard 1938; Reimnuth 1942 und 1943; Gassner 1948) übereinstimmend von *Helminthosporium*.

¹⁾ Nach Lindau (1910).

²⁾ Nach Christoff (1930).

Wir werden auf die Frage der systematischen Stellung des Pilzes auf Grund eigener Beobachtungen noch näher einzugehen haben.

Die Hauptfruchtform des Pilzes ist ebenfalls seit langem bekannt und vornehmlich auf den harten Resten der verrottenden Mohnpflanze, also Stengel, Wurzel und Kapsel, beobachtet worden. Über den Zusammenhang der Neben- und Hauptfruchtform liegen Untersuchungen von Girzitska (1928, *Dendryphium penicillatum* mit *Pleospora papaveracea*) und Christoff (1930, *Helminthosporium papaveri* mit *Pleospora calvescens*) vor.

Auch die Fruchtkörper des Pilzes gehen unter verschiedenen Namen. Die folgende Darstellung basiert auf den Angaben Christoffs. Danach bezeichnet Fries den Pilz als *Sphaeria calvescens* und *Sphaeria pellita*, Tulasne später als *Pleospora calvescens* und *Pleospora papaveris*. Letztgenannter Name wurde einem Pilz gegeben, der früher als *Sphaeria Brachy-cladii* beschrieben worden war und nach Desmazieres mit *Pleospora pellita* Rhb. identisch ist. Später identifiziert Tulasne selbst *Pleospora papaveris* mit *Pleospora pellita*. Gleichzeitig mit Tulasne beschreibt de Notaris den Pilz als *Pleospora calvescens* und *Cucurbitaria papaveracea*. Saccardo führt *Pleospora calvescens*, *Pleospora papaveracea*, *Pyrenophora calvescens* und *Pyrenochoma pellita* an. Winter beschreibt ihn unter den Namen *Pleospora calvescens*, *Pleospora papaveracea* und *Pleospora pellita*.

Die verschiedenen Bestimmungen vergleichend, ist Berlese (1888) zu dem Schluß gekommen, daß alle den gleichen Pilz bezeichnen, dem der erste von Tulasne gegebene Name zukommt: *Pleospora calvescens* (Fries) Tulasne.

3. Morphologische Einzelheiten

a) Konidien

Unsere eigenen Beobachtungen decken sich weitgehend mit den in der Literatur anzutreffenden Angaben. Die gelbbraunen Konidien (Abb. 1a) sind zylindrisch mit abgerundeten Endzellen, die Basalzelle ist häufig auch etwas konisch. Die ehemalige Ansatzstelle bleibt meist als dunkler Fleck sichtbar. Kirchner (1891) beobachtet Ähnliches bei *Helminthosporium gramineum* und spricht von einem mit Luft erfüllten Spalt in der Membran; nach Christoff tritt jedoch der Keimschlauch stets neben dieser Stelle aus.

Die Konidien sind durch mehrere Querwände in wechselnder Anzahl geteilt. Zur näheren Untersuchung der Septenzahlen wurden Kulturen verschiedener Abstammung auf einem 3 prozent. Malzagar angelegt, die entstandenen Konidien abgeschwemmt und nach der Art ihrer Septierung ausgezählt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Kulturen mit gleicher Nummer stammen von Pilzmaterial gleicher Herkunft ab. Das gleichfalls angegebene Alter der Kolonien war bei der Untersuchung ver-

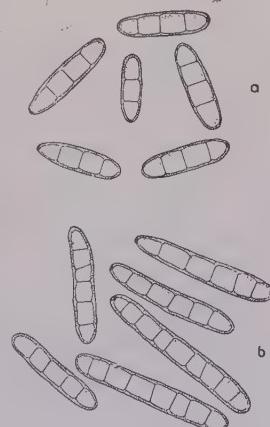


Abb. 1
Konidien von *Helminthosporium papaveris*,
a) von befallenem Mohnkeimling, b) von Mohnkapsel. 200 fach

schieden. Die Kulturen waren gleichzeitig angesetzt und unter gleichen Bedingungen, d. h. bei einer Temperatur von 25°C, gehalten worden.

Die Tabelle 1 zeigt, daß sich die Konidien aus Kulturen verschiedener Abstammung in der Zahl ihrer Septen etwas unterscheiden. In einer Gruppe (Nr. 50—77d) überwiegen drei Querwände; in einer anderen (Nr. 79—80) nimmt die Zahl der Konidien mit nur ein oder zwei Septen zu; in den Kulturen Nr. 78—81 hat überhaupt die Mehrzahl weniger als drei Querwände. Kulturen gleicher Abstammung zeigen gleiches Aussehen der Konidien. Da die Anzucht unter gleichen Bedingungen und gleichzeitig erfolgte, deuten die Befunde vielleicht auf Rassenbildung des Pilzes hin. Hierfür würde auch die Beobachtung sprechen, daß die gebildeten Konidien gewisse Unterschiede in der Keimungsgeschwindigkeit zeigten und daß sich die Kulturen auch im Aussehen etwas unterschieden.

Die in den Untersuchungen zu Tabelle 1 geprüften Konidien stammten aus Reinkulturen, die mit Konidien von erkrankten Mohnkeimlingen angelegt

worden waren. Wie Tabelle 2 darstellt, überwiegen auch im Material von erkrankten Keimlingen die Sporen mit drei Querwänden; an befallenen Mohnkapseln wurden dagegen auch vielfach größere Konidien mit vermehrter Septenzahl (bis zehn) beobachtet (Abb. 1 b). Wurden mit solchen Sporen auf Malzagar Kulturen angelegt, so entstanden hier wieder überwiegend vierzellige

Tabelle 1
Septierung der Konidien aus verschiedenen Kulturen

Nr. der Kultur	Alter der Kultur in Tagen	Prozent Konidien mit				
		1	2	3	4	5
50	9	8	17	71	—	4
63	9	8	17	71	3	1
64	9	8	17	70	3	2
73	5	8	14	77	1	—
77a	5	9	15	73	3	—
77b	10	7	18	72	3	—
77c	10	9	16	73	2	—
77d	10	8	14	75	3	—
79a	10	12	24	64	—	—
79b	10	13	20	66	1	—
80	10	13	28	58	1	—
78a	6	20	33	45	1	1
78b	6	24	38	36	2	—
81	10	20	41	39	—	—

Konidien. Offensichtlich hängen also Zahl der Septen sowie Größe der Konidien auch von den Ernährungsbedingungen ab, die verständlicherweise an den heranwachsenden Kapseln besonders günstig sind. Andererseits konnte beobachtet werden, daß der Pilz in Hungerkulturen, in denen ihm nur Ag.dest. geboten wurde, bedeutend kleinere Konidien mit nur ein oder zwei Querwänden erzeugte.

Tabelle 2
Septenzahl der Konidien von verschiedenen Substrat (Prozent von je 200 Konidien)

Herkunft der Konidien	Prozent Konidien mit									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Agarkultur (Nr 63)	8	17	71	3	1	—	—	—	—	—
Erkrankter Mohnkeimling	—	2	86	8	4	—	—	—	—	—
Erkrankte Mohnkapsel I	—	5	62	15	12	2	3	1	—	—
Erkrankte Mohnkapsel II	1	—	10	6	28	25	17	7	5	1

Diese Befunde müssen berücksichtigt werden, um die in der Literatur anzutreffenden, nicht unbeträchtlich divergierenden Angaben über Sporengroße und Septenzahl verständlich zu machen. So werden von Iwanow (1921) 3—4 Querwände angegeben, und auch Migula (1934) charakterisiert die *Dendyphium-penicillatum*-Konidien mit 3—4 Septen; Sawada (1918) findet 3—10, Christoff gibt für seine Konidien 3—10, meist (!) 3 bis 5 Querwände an und bemerkt, daß die von ihm an der Mohnpflanze beobachteten meist 5 hatten. Über die Länge der Sporen und ihre Septenzahl bei verschiedenen Autoren soll noch die folgende Zusammenstellung berichten:

Autor	Konidienlänge in μ	Septenzahl	Substrat
Sawada (1918) . . .	7—11 \times 22—112	3—10	
Iwanow (1921) . . .		3—4	
Girzitska (1928) . . .	3—5 \times 25—35		Agarkultur
Christoff (1930) . . .	5—8 \times 15—57 (mittel 25) 22—100		Haferagar Mohn
Barbacka (1935) . . .	4,5—8,3 \times 20—97	3—10, meist 5	Mohn
Eigene Untersuchungen : .	5—8 \times 30—35 35—70	meist 3 meist 5—6	Malzagar Mohnkapsel

Was den Bau der Konidien anbetrifft, so hat Christoff auf Grund von Plasmolyse-Untersuchung die Vermutung ausgesprochen, daß zwischen den einzelnen Zellen der Konidie eine Verbindung besteht. Diese Annahme ist richtig. Durch Behandlung der Konidien mit Jod und Chlorzinkjod nach der Methode von Wahrlich (1893) kann man die Verbindung zwischen den einzelnen Zellen sichtbar machen. Die Membranen, insbesondere die Querwände, verquellen, jedoch bleibt in der Mitte der Septen stets eine braun gefärbte Plasmaverbindung zwischen den Zellen bestehen (Abb. 2).

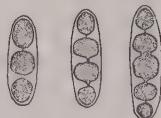


Abb. 2
Konidien nach der Behandlung mit Jod und Chlorzinkjod.
Die gequollenen Septen lassen einen Porus erkennen. 200 fach

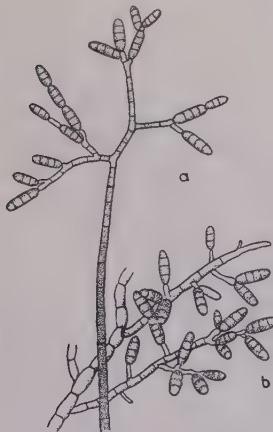


Abb. 3
Konidienträger, a) von der Mohnsamenschale, b) aus der Agarkultur. 75 fach

In noch höherem Maße als bei den Konidien wird das Bild der Konidienträger von Ernährungsverhältnissen und der Natur des Substrates beeinflußt. Die an kranken Mohnsamen im Petrischalen-Keimbett zu beobachtenden Konidienträger können die Gestalt kleiner „Bäumchen“ annehmen (Abb. 3a). An der Spitze eines vielzelligen, aufrechten Stämmchens entstehen mehrzellige Seitenäste, welche die Konidien hervorbringen. Diese Seitenäste verzweigen sich, indem sie an der Spitze neben der zunächst endständigen Konidie weiterwachsen, wobei sie diese zur Seite drängen, so daß knieförmige Biegungen entstehen. Dieser Vorgang wiederholt sich an dem gleichen Ästchen mehrere Male. Die Stelle des früheren Konidien-

ansatzes lässt sich nach dem Abfallen der Spore auch an den Trägern meist noch erkennen, da sie als dunkler Fleck sichtbar bleibt.

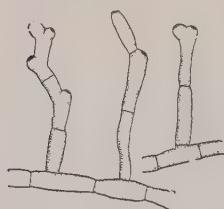


Abb. 4
Konidienträger aus
der Agarkultur.
200 fach

Im Gegensatz zu diesem „Bäumchen“ entstanden in den Agarkulturen des Pilzes die Konidien an kurzen Seitenästen der Oberflächenhyphen (Abb. 3 b; Abb. 4). Diese Tragorgane werden nur $30-50\text{ }\mu$ lang und haben meist 1—3 Septen. Ihre Verzweigung erfolgt in der eben beschriebenen Weise durch Fortwachsen der Endzelle neben der vorher gebildeten Konidie. Da also hier meist kein Stämmchen ausgebildet wird, das die konidienbildenden Zweige über das Substrat erhebt, so erscheinen hier die Konidienträger kaum oder nur sehr wenig verzweigt.

c) Myzel

Die Hyphen des Pilzes sind von gewöhnlichem *Dematiaceen*-Typ, meist braun oder dunkelgrün gefärbt. Ihre Zellen sind in der Regel bei einem Durchmesser von $3-8\text{ }\mu$ bis $20\text{ }\mu$ lang und durch einen feinen Septen-Porus miteinander verbunden. Anastomosen waren bei unseren Kulturversuchen nur selten zu beobachten.

Unter günstigen Bedingungen wird in Kulturen ein mehrere Millimeter hohes, weißes, zunächst wattiges Luftmyzel ausgebildet. Seine Zellen sind inhaltsarm und oft in eigentümlicher Weise verzweigt (Abb. 5). In älteren Kolonien entstehen aus den Lufthyphen Coremien-ähnliche Gebilde.

Gelegentlich treten in den Kulturen Oidien auf. Sie können sich auch mit einer stärkeren Membran umgeben und so zu „Chlamydosporen“ (nach Christoff) werden. Ihre Größe entspricht der der Hyphenzelle, aus der sie entstehen. Diese

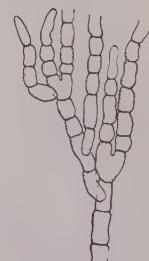


Abb. 5
Hyphen aus
dem Luftmyzel.
200 fach

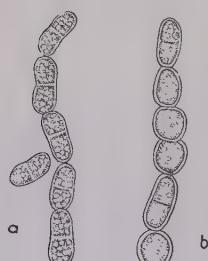


Abb. 6
a) Oidien, b) Chlamydosporenbildende
Hyphe, c) Chlamydosporen aus er-
schöpfter Agar-
kultur. 200 fach

Körper sind rund oder ellipsoid, mit Tröpfchen gefüllt oder auch inhaltsarm. In der Jugend sind sie hyalin, im Alter braun (Abb. 6). Nach Christoff unterscheidet sich unser Pilz durch die Chlamydosporenbildung von allen bekannten *Helminthosporium*-Arten. Sie spielt bei der Überwinterung des Schädlings in Ernterückständen und in im Herbst gesäten Mohnpflanzen eine Rolle.

d) Stromata und Fruchtkörper

Die Fruchtkörper des Pilzes gehen aus den Stromata hervor und sind, wie oben erwähnt, seit langem in der Literatur eingehend beschrieben. Wir selbst haben Stromata und Fruchtkörper im Januar 1947 reichlich an verrottenden Mohnstengeln in den verschiedensten Entwicklungsstadien gefunden (Abb. 7).

Die zunächst entstehenden Stromata stellen kugelige Gebilde aus kleinen Zellen dar. Sie lassen eine dunkel-

braune, dünne Rindenschicht und ein aus weißem, dichtem Gewebe bestehendes Mark erkennen. Sie erreichen auf natürlichem Substrat eine Größe bis zu etwa 300μ . Ihre Anfangsentwicklung konnte, wie später geschildert wird, auch in Agarkulturen beobachtet werden; hier wurden sie jedoch nur bis 70μ groß.

In diesem Stroma werden später die Ascii in einer Schicht frei in Loculi angelegt, so daß das ganze Stroma zu einem „Pseudo-peritheziun“ wird (vgl. Lohwag 1941, und

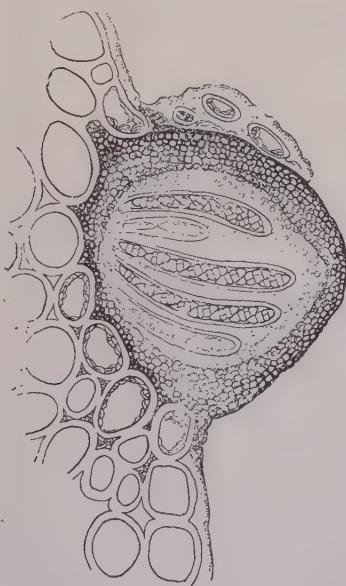


Abb. 8
Pleospora calvenscens-Fruktkörper von verrottendem Mohnstengel, angeschnitten. 100 fach

zeit $90-110 \mu$ lang; im inneren Schlauch werden 8 Ascosporen gebildet (Abb. 9). Die Ascosporen sind länglich eiförmig, oft unten etwas stärker verjüngt und in der Mitte schwach eingeschnürt. Sie enthalten drei Querwände und in den mittleren Zellen häufig eine Längswand. Die Farbe der Sporen ist gelbbraun; sie werden bei einer Stärke von etwa 8μ meist $17-22 \mu$ lang.

Der Zusammenhang dieser Fruchtkörper mit der *Helminthosporium*-Konidienfruchtform konnte experimentell bestätigt werden. Isolierte Ascosporen wurden

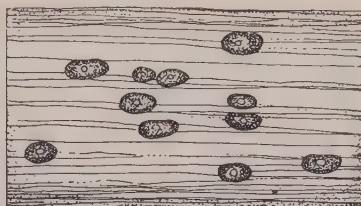


Abb. 7
Pleospora calvenscens-Fruktkörper am Mohnstengel

Greis 1943). Im Anfangsstadium dieser Umwandlung sieht man im Innern des Stromas einen Kern aus „Interthezialfasern“. Zwischen diese schieben sich dann von unten die Ascii, wodurch erstere in immer dünneren Stränge aufgespalten und zusammengepreßt werden, so daß sie schließlich nur noch undeutlich zu erkennen sind. Die fertig ausgebildeten Fruchtkörper (Abb. 8) unterscheiden sich von den Stromata äußerlich nur durch das zuletzt am Scheitel deutlich werdende Pseudo-Ostiolum, durch das die Ascosporen ins Freie gelangen. Ihre Wandung, also der Rest des Stromas, ist 30 bis 40μ dick. Sie besteht innerhalb der dünnen Rindenschicht aus etwa 5μ großen Zellen mit gering verstärkter, brauner Membran, in den inneren Schichten aus kleinen, farblosen Zellen, die in der Nähe des Fruchtkörperkernes undeutlicher werden. Der über den Ascii liegende Gewebeteil ist schwächer entwickelt. Die Ascii sind doppelwandig und zur Reife-

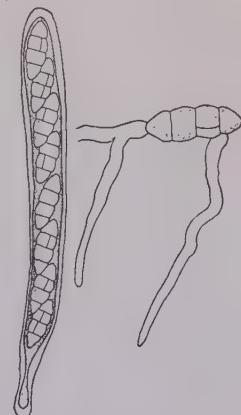


Abb. 9
Ascus von *Pleospora calvenscens*, daneben gequollene, keimende Ascospore. 200 fach

auf Malzagar übertragen, wo sie nach starker Quellung keimten (Abb. 9). Schon nach wenigen Tagen waren an den entstandenen Myzelien die typischen *Helminthosporium*-Konidien zu beobachten.

4. Die systematische Stellung und Reichweite des Erregers

Die Gattungen *Dendryphium* und *Helminthosporium* stehen sich sehr nahe; ihre Abgrenzung ist, wie z. B. Lindau (1910) zugibt, mehr oder minder unsicher. Sie unterscheiden sich nach Lindau (1910 und 1922) und Migula (1934) zunächst in der Konidienstellung. Für *Dendryphium* wird eine Anordnung der Konidien in Ketten an der Spitze der Zweige des Trägers angegeben, für *Helminthosporium* einzelne, akrogene Bildung, nach der die Endzelle des Trägers gelegentlich aber fortwächst, so daß die Sporen schließlich auch seitlich stehen können. Die Konidienträger werden für *Dendryphium* als nach der Spitze zu unregelmäßig und reich verzweigt, für *Helminthosporium* als meist unverzweigt oder nur mit einzelnen kleinen Ästchen beschrieben.

Was zunächst die Einzel- bzw. Kettenbildung der Konidien anbetrifft, so ist diese — nach den genannten Autoren — recht variabel; gerade bei *Dendryphium penicillatum* kann Kettenbildung meist fehlen. Das trifft auch nach unseren Beobachtungen zu; nur in einigen Kulturen, die besonders gute Entwicklung zeigten, wurden häufiger zwei- bis dreigliedrige Ketten angetroffen. Diese kurzen Konidienketten treten auch bei den *Helminthosporien* auf (vgl. Ravn 1910), so daß dieses Merkmal keine Entscheidung ermöglicht. Als wichtiger für die Trennung der in Frage stehenden Gattungen wird deshalb auch von Lindau (1910) die eigenartige und starke Verzweigung der Konidienträger in der *Dendryphium*-Gruppe angesehen. Es muß jedoch dahingestellt bleiben, wie weit die Verzweigung im vorliegenden Falle als charakteristisches Merkmal herangezogen werden kann, denn sie erwies sich bei unserem Pilz als sehr variabel und abhängig von Kulturbedingungen. Häufig erschienen die Konidienträger als reich verzweigte Bäumchen, also nach dem *Dendryphium*-Typus, ebensooft aber kaum oder unverzweigt, wie es für die Gattung *Helminthosporium* beschrieben wird. Sawada (1918) stellt den Schädling trotz „reich verzweigter Konidienträger“ zu den *Helminthosporien* und auch von Christoff wird daran kein Anstoß genommen, ihn in diese Gattung zu verweisen.

Die Bildung der Konidien und die Verzweigung ihrer Träger lassen sich hier also nicht als eindeutige, morphologische Merkmale werten, weil ihre Abhängigkeit von den Wachstums- und Kulturbedingungen zu groß ist. Dagegen entspricht die Art, in der die Verzweigung der Konidienträger erfolgt, ganz eindeutig der in der Literatur für die *Helminthosporien* als charakteristisch angegebenen Weise. Allerdings muß zugegeben werden, daß entsprechende Beobachtungen für andere *Dendryphium*-Arten anscheinend noch nicht vorliegen. Darüber hinaus bringt der Pilz bei guten Ernährungsbedingungen vielfach längere Konidien hervor, als sie für *Dendryphium penicillatum* beschrieben werden, wie weiter oben an dem von Mohnkapseln isolierten Sporenmaterial gezeigt werden konnte. Dieses Auftreten langer

Konidien, ihre Struktur sowie ihr Verhalten bei der Keimung und der Zusammenhang mit einer *Pleospora*-Hauptfruchtform würden den Pilz gut mit den übrigen bekannten *Helminthosporien* verbinden und der Definition der Cylindro-*Helminthosporien* von Niskado (Wollenweber 1938) entsprechen.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß eine eindeutige Entscheidung über die systematische Stellung des Pilzes nicht ohne Schwierigkeiten zu treffen ist, jedoch lassen es viele Momente wohl als genügend gerechtfertigt erscheinen, ihn weiter zu den *Helminthosporien* zu stellen.

Als Krankheitserreger wurde der Pilz bisher nur auf *Papaver*-Arten beobachtet, als Saprophyt ist er jedoch auch auf den Resten anderer Pflanzen angetroffen worden. So finden wir als Substrat der Konidienfruchtform verrottende Stengel von *Chelidonium* und *Malva* (Lindau 1910) oder ganz allgemein faulende Kräuterstengel (Migula 1934) angegeben. Als Fundort der Hauptfruchtform werden neben Mohnstengeln die Reste von „*Atriplex*, *Chenopodium* usw.“ (Migula 1913) beschrieben. Diese Funde können nicht überraschen, da der Pilz, wie weiter unten gezeigt werden wird, in seinen Ernährungsbedürfnissen recht anspruchslos ist.

Die Frage, wieweit der Pilz als Parasit auch auf anderen Pflanzen als Mohn auftreten kann, wurde bisher noch nicht untersucht und ist im folgenden geprüft. Die Untersuchung erfolgte — im Anschluß an die Arbeiten Gassners — mit Keimlingen in infizierten Keimbettten (Petrischale und Filtrerpapier) und bei einer Temperatur von 25° C. Auf diese Weise konnte Gassner zeigen, daß alle geprüften Mohnvarietäten anfällig sind, auch die aus gesunden Herkünften stammenden. Resistente Mohnformen konnten nicht gefunden werden.

In unseren eigenen Versuchen wurden die Samen sofort nach dem Auslegen im Keimbett mit einer starken Konidienaufschwemmung des Pilzes übersprüht und in Thermostaten zur Keimung gebracht. Nach dem Entfalten der Keimblätter wurde meist eine zweite Infektion vorgenommen. Die Konidien wurden in beiden Fällen in einer 0,1 prozent. Rohrzuckerlösung aufgeschwemmt und mit einem einfachen Zerstäuber übertragen. Die Versuchsdauer betrug zwei Wochen.

In einem Vorversuch mit 150 gesunden Mohnsamen konnten schon nach der ersten Infektion nur 16% der Keimlinge noch ihre Keimblätter entfalten, und nur 5% ließen nach 14 Tagen noch keinen Befall erkennen. Ebenso hochgradig anfällig zeigten sich einige aus dem Handel bezogene Ziermohne:

Papaver cardinale fl. pl. (Schreiber, Quedlinburg),

Papaver somniferum nanum fl. pl. (Heinemann, Erfurt),

Gef. Ranunkelmohn, Pompadur (*Glaucium?*) „ „ „

Gef. Federmohn „ „ „

Auch die Keimlinge von *Papaver dubium* L. wurden schnell vernichtet.

Neben den *Papaver*-Arten wurden wegen der nahen systematischen Verwandtschaft *Eschscholtzia* und *Chelidonium* und die ebenfalls zu den *Rhoeadales* zählenden *Cruciferen* herangezogen. *Eschscholtzia caespitosa* und

Esch. californica Cham. erwiesen sich als nicht anfällig. Die Samen von *Chelidonium majus* L. waren nicht zur Keimung zu bekommen; ihr Arillus gab einen guten Nährboden für den Pilz ab. Von den Cruciferen wurden geprüft:

- Alyssum argenteum* All.,
- Berleroa incana* DC.,
- Brassica Napus* var. *Napobrassica* (L.) Peterm.,
- B. oleracea* var. *capitata* L.,
- B. o.* var. *gemmifera* DC.,
- B. o.* var. *gongylodes* L.,
- B. o.* var. *Sabauda* L.,
- Capsella bursa pastoris* (L.) Medicus,
- Cheiranthus Cheiri* L.,
- Ch. maritimus* L.,
- Erysimum Perofskianum* Fisch. et Mey.,
- Hesperis matronalis* L.,
- Lepidium sativum* L.,
- Lunaria annua* L.,
- Nasturtium officinale* R. Br.,
- Raphanus Raphanistrum* subsp. *sativus* (L.) Domin,
- Sinapis alba* L.

An den aus diesen Samen sich entwickelnden Keimlingen waren vereinzelt braune Flecken zu beobachten, aus denen einige schwache Konidienträger des Pilzes hervorbrachen; im allgemeinen blieben die Pflänzchen jedoch gesund. Obwohl also eine gewisse Affinität auch zu den Cruciferen-Keimlingen vorhanden war, ließ der Schädling eine ausgesprochene Aggressivität vermissen, so daß im Sinne Gäumanns (1946) nicht von einem Befall gesprochen werden kann.

Das gleiche Ergebnis brachten Versuche mit *Chenopodiaceen*, die in der Literatur auch als Fundort angegeben werden. Es wurden geprüft:

- Beta vulgaris* var. *Cicla* L.,
- B. v.* var. *Rapa* Dum.,
- B. v.* var. *Rapa f. rubra* DC.,
- Spinacia oleracea* L.

Zusammenfassend darf wohl festgestellt werden, daß der Pilz, soweit es sich um parasitisches Wachstum handelt, eng auf *Papaver*-Arten beschränkt ist, als Saprophyt jedoch vermag er auf Pflanzenmaterial der verschiedensten Herkunft zu gedeihen.

5. Bildung und Keimung der Konidien

Die folgenden Beobachtungen wurden bei Kulturversuchen auf künstlichem Substrat gewonnen. Wie auch Girzitska (1928), Christoff (1930) und Barbacka (1935) fanden, macht es keine Schwierigkeiten, den Pilz zu kultivieren. Von uns wurde zur Anzucht des Schädlings und zur Gewinnung von Sporenmaterial in der Regel ein 3 prozent. Maltoseagar benutzt.

Die Konidienbildung tritt in jungen Kulturen leicht und schon nach zwei bis drei Tagen ein. Der Vorgang wird durch eine Plasmasammlung in der Endzelle des Trägers eingeleitet. Die Bildung selbst wurde in einer kontinuierlichen Beobachtungsreihe an einem warmen Sommertage (26° C) stündlich festgehalten und ist in Abb. 10 dargestellt. Die Konidie erscheint zunächst als winziges Kügelchen am Scheitel des Tragorganes. Dieses Kügelchen vergrößert sich rasch; wenn es den Durchmesser der späteren Konidie erreicht hat, beginnt es sich zu strecken. Die Streckung erfolgt anfangs schnell, später langsamer. Mit dem Hervortreten der Querwände wird die Konidienbildung beendet, bei einer vierzelligen Spore nach etwa sechs, bei einer zweizelligen schon nach zwei Stunden.

Der Pilz stellt für die Beobachtung dieses Vorganges offensichtlich ein günstigeres Objekt dar, als es andere *Helminthosporium*-Arten sind, bei denen die Bildung nach Ravn (1919), Noak (1905), Vogt (1923) und Stelzner (1923) nicht so leicht eintritt.

Anscheinend liegen jedoch auch in der Art der Konidienbildung zwischen unserem Pilz und einigen anderen *Helminthosporium spec.* Unterschiede vor. Bei *Helminthosporium teres* wird nach der von Ravn (1910) gegebenen Zeichnung die Konidie ebenfalls durch Sprossung erzeugt. Bei *Helminthosporium gramineum* dagegen entsteht die Spore nach Graham (Gäumann 1946) dadurch, daß in die Spitze der Trägerendzelle mehrere Kerne einwandern, dieser Teil sich dann durch eine Wand abgrenzt und die abgeteilte Zelle zur Konidie wird.



Abb. 11
Stündliche
Entwick-
lung bei der
Keimung
einer Konidie
auf
Malzagar
bei 25° .
200 fach

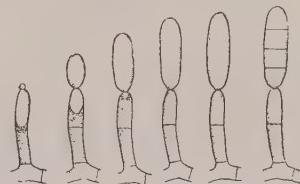


Abb. 10
Stündliche Entwicklung bei
der Sprossung einer Konidie.
200 fach

Die Keimung der Konidien erfolgt bei genügender Feuchtigkeit weitgehend unabhängig von der sonstigen Natur des Substrates, doch sind die Keimprozente in Wasser etwas niedriger als auf Agar. Die Konidien aus trockener Luft sind geringfügig faltiggeschrumpft; sie nehmen sofort bei ihrer Berührung mit Wasser ihre volle ursprüngliche Gestalt wieder an. Konidien aus feuchter Luft quellen nicht merklich vor der Keimung; lediglich an der Stelle des späteren Keimhyphenaustrettes erfährt die Membran eine geringe Dehnung, die dann hier zu ihrer Zerreißung führt. Die Keimhyphe erscheint zunächst als winziges Kügelchen, das sich, wenn es eine bestimmte Größe erreicht hat, zur Hyphe zu strecken beginnt (Abb. 11). In der Mehrzahl der Fälle bringt jede Zelle nur einen Keimschlauch hervor.

Die Keimfähigkeit der Konidien ist meist gut, jedoch keimen in der Regel nur eine oder wenige Zellen aus. In Tabelle 3 sind unsere Beobachtungen über die Zahl der Keimhyphen und die Lage der Zellen, aus denen sie austreten, zusammengestellt. Nach diesen Befunden können alle Zellen einen Keimschlauch hervorbringen, besonders gut keimfähig sind aber die Polzellen. Das Verhältnis zwischen gekeimten Polzellen und den übrigen gekeimten Zellen der Konidie kommt in folgender Berechnung aus den Ergebnissen der Tabelle 3 zum Ausdruck.

Bei den 4 zelligen Konidien keimten von 952 Polzellen $562 = 59\%$,
von 952 Mittelzellen $66 = 6,9\%$.

Bei den 3 zelligen Sporen errechnet sich das Verhältnis mit 11:1 und bei den 5 zelligen mit 11:2 zugunsten der Polzellen. Christoff berichtet, daß die von ihm untersuchten Konidien auf Agar meist aus allen Zellen keimten. Von den hier beobachteten wurden auch später auf besseren Nährböden nur selten mehrere Hyphen hervorgebracht.

Tabelle 3

Zahl und Lage der keimenden Zellen bei Konidien aus verschiedenen Kulturen
(ungekeimte Konidien nicht berücksichtigt)

Zahl der Zellen je Konidie	es keimen	Keimverhalten der Konidien aus den Kulturen Nr.					
		63	64	77b	77c	78a	78b
2	eine Zelle	10	10	8	6	30	42
	beide Zellen	—	—	—	2	2	3
	Summe	10	10	8	8	32	45
3	eine Polzelle	17	18	11	9	49	45
	die Mittelzelle	1	—	—	—	4	6
	beide Polzellen	1	4	3	2	5	3
	Pol- und Mittelzelle	—	—	—	—	2	—
	Summe	19	22	14	11	60	54
4	eine Polzelle	63	60	37	38	52	51
	eine Mittelzelle	3	5	—	—	5	8
	beide Polzellen	9	11	39	42	11	11
	1 Pol-, 1 Mittelzelle	—	4	2	2	2	3
	beide Mittelzellen	—	1	—	—	—	3
	drei Zellen	—	2	7	2	—	1
	vier Zellen	—	—	—	1	—	—
	Summe	75	83	85	85	70	77
	eine Polzelle	3	3	1	—	1	—
	zwei Zellen	—	1	—	1	1	—
5	Summe	3	4	1	1	2	—
	insgesamt	108	119	108	105	164	176

Die vorstehenden Versuche wurden bei Temperaturen von 25°C durchgeführt. Hier vollzieht sich die Keimung besonders schnell, wie die nachstehende Übersicht zeigt:

Temperatur	Kleimungsbeginn
18° C	5 Stunden nach der Aussaat
25° C	1 Stunde nach der Aussaat
29° C	Die Mehrzahl der Konidien von zwei Stämmen keimen nach zwei Stunden, von vier anderen nach drei Stunden

6. Verhalten des Pilzes in künstlicher Kultur

Über Kulturversuche unter künstlichen Bedingungen liegen, wie schon oben erwähnt, einzelne Beobachtungen von Christoff (1930) und Barbacka (1935) vor, die jedoch nur ein unzureichendes Bild von dem Verhalten des Pilzes und seinen Ernährungsansprüchen geben.

Für die hier durchgeführten Untersuchungen wurde das Pilzmaterial durch Konidienübertragung von befallenen Mohnkeimlingen isoliert. Zur Anlage der Reinkulturen diente anfangs ein Maltoseagar (Maltose 3%, Agar 2%), später ein Mohnsamenagar (Mohnsamendekokt 1 : 10 mit 2% Agar). Von diesen Reinkulturen ausgehend wurden gelegentlich auch Versuche mit flüssigen Nährböden angesetzt. Die Sterilisation der Substrate erfolgte im strömenden Wasserdampf. Alle Kulturen wurden im Thermostaten bei 24—26° gehalten, entsprechend den sowohl von Christoff als auch Gassner gemachten und diesseits bestätigten Angaben über die optimale Entwicklungstemperatur des Schädlings.

a) Myzelentwicklung

Die Anzahl der ausgesäten Konidien ist, wenn keine zu große Sporenmenge verwendet wird, für die Entwicklung der Kolonie von keiner Bedeutung; erfolgt die Überimpfung in der Mitte der Agarschale, haben wir auch bei Schwankungen der Konidienzahl kaum Unterschiede im Wachstum der Kolonie wie nebenstehende Übersicht zeigt.

Die Keimhypfen des Pilzes wachsen zunächst in flachem Winkel in das Substrat hinein. Das Wachstum erfolgt anfangs langsam, nimmt aber schnell zu, um sich schließlich einem konstanten Wert zu nähern, der bei 25° C etwa 30μ in der Stunde beträgt. Die Abhängigkeit des Längenwachstums von der Temperatur ist aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich: die aus einer Konidienzelle hervortretende Keimhyphe erreicht eine Länge von 30μ

- bei 18° C in 8 Stunden,
- bei 25° C in 2—3 Stunden,
- bei 28° C in 5 Stunden.

Zahl der ausgesäten Konidien	mittlerer Durchmesser der Kolonie in Millimeter	
	5. Tag	6. Tag
6	18	24
11	18	24
20	20	26

Auch die Bildung der ersten Querwände ist von der Temperatur abhängig: bei 25° C werden die ersten Septen nach vier Stunden sichtbar. Für die Art ihrer Bildung erscheint es bemerkenswert, daß sie nicht streng hinter der wachsenden Hyphenspitze erfolgt. Vogt (1923) beschreibt die gleiche

Erscheinung bei *Helminthosporium gramineum* und hält sie auf Grund seiner Vergleiche mit anderen Pilzen für die Gattung *Helminthosporium* für typisch.

Das einige Tage alte, kultivierte Myzel zeigt eine gewisse Differenzierung seiner Hyphen in Substrat- und Oberflächenhyphen. Später kann außerdem noch ein kräftiges Luftmyzel ausgebildet werden. Die Substrathyphen wachsen in den Agarkolonien in zentrifugaler Richtung, schwach wellig unter der Oberfläche des Nährbodens. Im allgemeinen sind die tiefer im Substrat liegenden Myzelfäden stärker gewellt als die nahe der Oberfläche

verlaufenden. Die Zellen der Substrathyphen enthalten in der Regel nur wenige Einschlüsse (Abb. 12 a). Bei Vitalfärbung mit Kongorot nehmen diese Hyphen den Farbstoff leicht auf, besonders durch die Spitzen der Zweighyphen, und leiten ihn zum Zentrum der Kolonie.

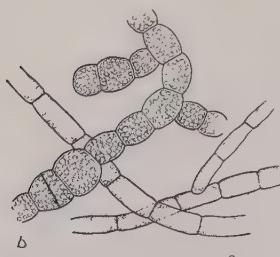


Abb. 12
Substrathyphen (a) und
Oberflächenhyphen (b) von
einem Mineral-Glukose-
Agar. 200 fach

Chlamydosporen hervorgehen. Auf den meisten Substraten mit Mineralsalzen sind die Zellen dieser Hyphen reichlich mit gelben Tröpfchen gefüllt (Abb. 12b), die sich leicht in Äther lösen, mit Sudan III färben und als Fett angesprochen werden müssen. Mit dem stärkeren Auftreten dieser Inhaltsstoffe nimmt die Konidienbildung der Kultur ab, um schließlich ganz zu unterbleiben. Vermutlich handelt es sich um eine Degenerationserscheinung, die mit Küster (1925) als fettige Degeneration bezeichnet sei. Auch die Wuchsrichtung der Oberflächenhyphen ist anders als die des Substratmyzels. Die Oberflächenhyphen wachsen stets bogenförmig entgegen der Uhrzeigerrichtung. So trifft auch für unseren Pilz der Befund Vogts (1923) zu, der hierin eine der Gattung *Helminthosporium* eigentümliche, konstante Eigenschaft vermutet (vgl. auch Stelzner 1934). Bei der Vitalfärbung mit Kongorot nehmen die Oberflächenhyphen nur sehr langsam eine schwache Färbung an.

Unter gewissen Bedingungen, vor allem auf besseren Nährböden, entwickelt der Pilz von der Mitte der Kolonie aus ein weißes Luftmyzel, das aber in seiner Ausbildung auch von einer bestimmten Luftfeuchtigkeit abhängt. Dieser Nachweis lässt sich experimentell leicht erbringen, wenn man in weiten Reagenzgläsern (3 cm Θ) Schrägagarkulturen anlegt. Substratzusammensetzung: NH_4NO_3 0,6%; KH_2PO_4 0,3%; $\text{MgSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,15%, Maltosesirup 5%, Agar 2%. Die Gläser wurden locker mit Watte verschlossen und in größere, geschlossene Zylinder gestellt, deren Luftfeuchtigkeit variiert wurde. In Gruppe A enthielten die Zylinder nur Luft, in Gruppe B standen die Gläser über Silikagel, in Gruppe C über Wasser. Bei etwa gleichem Flächenwachstum der Kolonie entwickelte der Pilz bei unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit ein verschieden starkes Luftmyzel, Tabelle 4.

Tabelle 4
Luftmyzelbildung bei verschiedener Luftfeuchtigkeit

Temperatur	Aufbewahrung der Kultur		
	A bei normaler Luftfeuchtigkeit	B über Silikagel	C über Wasser
18° C	+++	-	+
25° C	+++++	-	-

Bei normaler Luftfeuchtigkeit (A) war also die Luftmyzelbildung stärker als im wasserdampfgesättigten Raum (C); sie fehlte ganz in der trockenen Atmosphäre (B).

Die Lebensdauer des Luftmyzels ist begrenzt; etwa 10 Tage nach seiner Ausbildung fällt es in sich zusammen und kann später ganz aufgelöst werden.

b) Entwicklung der Konidienträger

Die Ästchen der Oberflächenhyphen, an denen die Konidien gebildet werden, unterscheiden sich durch geringere Wuchsgeschwindigkeit, aufrechte Stellung und eine etwas stumpfere Scheitelzelle von den normalen Zweighyphen. Die Ausbildung der Konidienträger dauert in der Agarkultur 5 bis 7 Stunden (26° C). Nach ihrer Fertigstellung tritt eine längere Ruhepause ein, ehe die erste Konidie erzeugt wird. In optimalen Fällen scheint jede Zelle der Oberflächenhyphe einen Konidienträger hervorbringen zu können.

c) Oidien- und Chlamydosporenbildung

Die Oidien- und Chlamydosporenbildung des Pilzes kann in der Agarkultur leicht beobachtet werden. Die Oidien treten besonders häufig bei reichlicher Ernährung auf. Ihre Bildung erfolgt vornehmlich durch die Oberflächenhyphen. Die Zellen dieser Hyphen zeigen sich zunächst prall mit Fetttröpfchen gefüllt. Später runden sie sich an den Querwänden ab, so daß es zum Zerfall des Myzelfadens in meist ovale, oft durch eine sekundäre Septe zweizellige Gebilde kommt (Abb. 6a). Gelegentlich umhüten sich die Zellen der Oberflächenhyphen auch mit einer stärkeren Membran und können dann mit Christoff als Chlamydosporen bezeichnet werden. Abb. 6b stellt ein Chlamydosporenyzel dar. Seine einzelnen Zellen sind keimfähig. Auch in erschöpften Agarkulturen werden Chlamydosporen angetroffen. Hier ist ihre Entstehung eine etwas andere. Das Plasma eines Hyphenabschnittes zieht sich in einer oder in wenigen Zellen zusammen; diese Zellen runden sich ab und lösen sich aus dem Hyphenverbande; die sie vorher verbindenden, nun leeren Hyphenabschnitte verschwinden, so daß schließlich die sich noch dick umhügenden Körper getrennt im Agar liegen. Nur dort, wo die Hyphen plasma-reicher waren, lassen sie durch ihre reihenförmige Anordnung den ursprünglichen Zusammenhang noch nachträglich erkennen (Abb. 6c).

d) Stromabildung

In Hungerkulturen wurden verschiedentlich Gebilde beobachtet, die als beginnende Stromabildung gedeutet werden müssen, wenigstens entsprechen sie

in jeder Weise den Bildern, die in den Anfangsstadien der Stromaentwicklung an faulenden Mohnstengeln beobachtet werden können. Sie zeigen die Neigung des Pilzes zur Bildung parenchymatischer Gewebe (im Sinne Nannfeldts 1932).

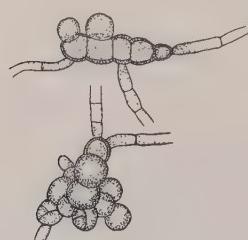


Abb. 13
In Aq. dest. gekeimte Konidien, 20 Tage nach der Aussaat. 200 fach

Hierbei septieren sich einzelne Zellen in verschiedenen Richtungen des Raumes, so daß schließlich „meristogene“ Körper zustandekommen.

Abb. 13 zeigt das Keimmyzel von Konidien, die in Aq. dest. gekeimt waren, 20 Tage nach ihrer Aussaat. Ein Teil der Zellen ist hier zu kugeligen Aggregaten ausgewachsen. Ein derartiges Verhalten keimender Konidien wird z. B. von Klebahn (1905) für *Pleospora ulmi* geschildert und ist auch von *Alternaria*-Konidien bekannt.

Weit häufiger ist diese Erscheinung an Hyphenzellen zu beobachten. Sie trat sicher auf einem 2 prozent. Glukoseagar mit einigen Tropfen KOH auf. Abb. 14 stellt die Entwicklung dar.

Im ersten Stadium lassen bestimmte Zellen eine schwache Hypertrophie erkennen, offensichtlich durch Stoffzufuhr und -stapelung verursacht. Diese Zellen sind dunkler gefärbt als die benachbarten der Ausgangshyphe. Durch ständig fortschreitende Teilungen bilden sich aus ihnen schließlich kugelige Körper. Nachbarhyphen können sich durch Anastomosen an diesen Bildungen beteiligen. Von den peripher gelagerten Zellen wachsen einige wieder zu normalen, kurzen Hyphen aus, die wohl der Ernährung dienen (Abb. 15). So entstehen schließlich runde, dunkle Stromata, die in der Agarkultur stets unter der Oberfläche

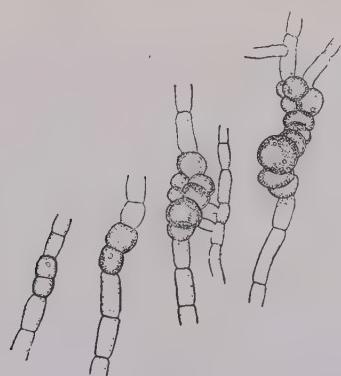


Abb. 14
Anfangsstadien der Stroma-bildung. 200 fach

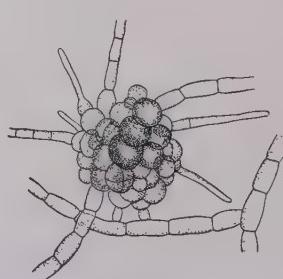


Abb. 15
Fortgeschrittenes Sta-dium der Stroma-bildung. 200 fach

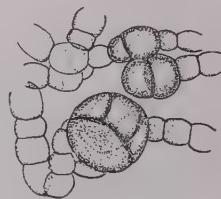


Abb. 16
Riesenzellen aus einer Flüssigkeitskultur. 200 fach

des Nährbodens liegen. Meist kann man an der gleichen Hyphe in Abständen verschiedene Stadien dieser Bildungen beobachten. Die ersten Teilungsebenen liegen, wie die Abb. 14 erkennen läßt, hauptsächlich senkrecht zur Wuchsrichtung der Mutterhyphe; durch die Kugelform der entstehenden Zellen wird das Bild bald unübersichtlich.

Eine Weiterentwicklung dieser Stromata konnte nicht beobachtet werden, nur die Übereinstimmung mit den an verrottenden Mohnstengeln gefundenen Gebilden rechtfertigt den Schluß, daß es sich um eine echte Stromabildung handelt. Andererseits liegen gewisse Beobachtungen vor, die zur Vorsicht bei der Deutung mahnen. So konnten in flüssigen Kulturen mit höherem Glukosezusatz (20%) Riesenzellen festgestellt werden, die sich ebenfalls in verschiedenen Richtungen des Raumes teilten und dann eine gewisse Ähnlichkeit mit den ersten Bildungsstadien der Stromata hatten (Abb. 16).

e) Einfluß der Substratreaktion auf die Entwicklung des Pilzes

Da die quantitative Beurteilung des Pilzwachstums auf festen Nährböden auf Schwierigkeiten stößt, wurden für die Prüfung des Pilzwachstums bei verschiedener Reaktion des Substrates Flüssigkeiten verwendet; die Pilzdecke läßt sich so leicht gewinnen und gravimetrisch bestimmen. Das Myzel wurde vorsichtig ausgewaschen und nach dreistündigem Trocknen bei 80°C gewogen.

Die ersten Versuche wurden mit Pufferlösungen nach Sörensen durchgeführt. Sie brachten keine klaren Ergebnisse, weil durch die unterschiedlichen Ionenmischungen Störungen hervorgerufen wurden. In den Hauptversuchen wurde deshalb von Pufferlösungen Abstand genommen und die pH-Werte zu Beginn und am Ende der zehntägigen Kultur bestimmt. Die pH-Messungen erfolgten mit den Indikatorfolien nach Höll (vgl. Kern 1937). Als Nährlösung diente ein Kapsel-Stroh-Dekokt 1:10 mit einem Zusatz von 3% Malzsirup. Diese Lösung zeigte einen pH-Wert von 5,6; die gewünschten pH-Stufen wurden mit n/1 HCl bzw. n/1 NaOH eingestellt. Wie aus Tabelle 5 zu ersehen ist, waren die Reaktionsänderungen nicht unbeträchtlich. Sie erfolgten in sauren Lösungen nach dem Neutralpunkt, bei alkalisierter dagegen zum schwach sauren Gebiet hin.

Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabelle 5 und Abb. 17 zusammengefaßt.

Tabelle 5
Entwicklung des Pilzes bei verschiedener Reaktion der Nährlösung

Anfang des Versuchs	Ende	pH	eingestellt mit	Myzelgewicht mg am 10. Tage	Bemerkung
3,0	3,0	HCl		—	kein Wachstum
3,6	4,0	HCl		37	kein Luftmyzel
4,8	5,0	HCl		48	kein Luftmyzel
5,2	5,8	HCl		42	Luftmyzel (+)
5,6	6,2	—		38	" +++
6,2	6,4	NaOH		41	" +++
6,8	6,4	NaOH		36	" ++
7,4	6,4	NaOH		31	" +
8,0	6,4	NaOH		26	" +
9,0	6,4	NaOH		29	" +

Aus den ermittelten Werten geht hervor, daß unter den hier geschaffenen Bedingungen die erzeugten Myzelgewichte im sauren Substrat höher sind als im alkalischen. Es darf angenommen werden, daß die in den

alkalischen Lösungen gefundenen Werte noch geringer gewesen wären, wenn nicht während der Versuchsdauer die Reaktionsänderung nach der sauren Seite erfolgt wäre, denn die pH-Endwerte waren meist schon nach 6—7 Tagen erreicht. Daß Unterschiede in der Entwicklung vorliegen, läßt auch die Ausbildung des Luftmyzels erkennen: sie war am besten in von Anfang an schwach sauren Lösungen. Das Minimum für die Entwicklung des Pilzes liegt zwischen pH 3,0 und 3,6. Die höchsten Myzelausbeuten wurden bei einer Reaktion um pH 5 erhalten. Das Maximum liegt, wie aus anderen Versuchen hervorging, noch über einem Anfangs-pH von 10.

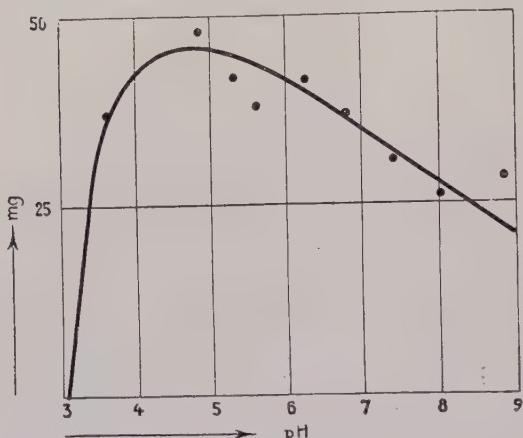


Abb. 17
Pilzernten bei verschiedenem pH

Mohnkeimlinge hier schon in einzelnen pH-Stufen Salzschäden zeigten. Als hinreichend geeignet wurde schließlich ein 2 prozent. Agar benutzt, dessen pH-Werte mit n/1 HCl bzw. n/1 NaOH eingestellt wurden. Auch in diesen Kulturen verschoben sich die Reaktionen während der Versuchsdauer, jedoch weniger als in den Lösungen der Pilzkulturen. In den sauren Stufen veränderten sie sich um einige Dezimalen zum Neutralpunkt hin, die um pH 7 liegenden blieben konstant, während sich die alkalischen Werte zum Neutralpunkt hin bewegten. Die Kulturen wurden im matt erleuchteten Thermostaten bei 25° C gehalten. Das Ergebnis wurde nach 10 Tagen abgelesen; weitere Keimung erfolgte nicht mehr. Bei der Beurteilung der Keimung wurde zwischen angekeimten und gekeimten Samen unterschieden. Die als gekeimt bezeichneten hatten bei der Auswertung Pflänzchen mit voll entwickelten Keimblättern hervorgebracht, bei den angekeimten war nur die Wurzel ausgetreten oder doch noch keine Entfaltung der Blättchen zu beobachten.

Zunächst wurde das Verhalten von Mohnsamen aus gesund ausschenden Kapseln geprüft. In jeder pH-Stufe gelangten 150 Samen in fünf Petrischalen zur Aussaat. Über das Ergebnis berichtet Tabelle 6.

Die Keimung der Mohnsamen beginnt um pH 3,4; die Zahl der beobachteten Keimlinge steigt bis pH 5 steil an, um sich dann weiter in die

Da Mohnanbau sowohl auf alkalischen als auch sauren Böden betrieben wird, wurde anschließend untersucht, ob die Substratreaktion, die die Entwicklung des Schädlings beeinflußt, auch bei der Erkrankung der Mohnkeimlinge eine Rolle spielt.

Als Versuchsanordnung erwies sich das übliche Filterpapier-Keimbett als wenig zweckmäßig. Selbst mit Pufferlösungen (Sörensen) traten Reaktionsverschiebungen ein, denn die für eine Pufferwirkung erforderliche Konzentration von mindestens $\frac{1}{20}$ Mol konnte nicht mehr angewendet werden, da die Mohn-

alkalischen Stufen hinein auf etwa gleicher Höhe zu halten. Die Kulturen zeigten bei stark saurem Substrat eine sehr hohe Verpilzung. Außer einzelnen, schwachen *Helminthosporium*-Kolonien, die hier praktisch vernachlässigt werden können, und neben *Mucor mucedo* waren vor allem *Penicillium*-Arten an den Keimlingen zu beobachten.

Tabelle 6
Keimung von Mohnsamen bei verschiedener Reaktion des Keimbettes
(% von 150 Samen in jeder pH-Stufe)

pH bei Versuchs- beginn	ungekeimt	angekeimt oder gekeimt			
		gesund		mit Schimmelbildung	
		angekeimt	gekeimt	angekeimt	gekeimt
3,4	8	0	0	92	0
4,0	4	4	68	16	8
5,0	2	2	88	3	5
6,2	3	3	88	1	5
7,2	0	0	98	0	2
8,0	2	0	92	0	6
9,2	0	1	91	2	6

Das in gleicher Weise geprüfte Saatgut aus schwer befallenen Mohnkapseln ergab das in Tabelle 7 wiedergegebene Bild. Die Zahl der kranken Keimlinge ist hier sehr hoch; ihre höchsten Werte liegen um pH 4, während sich in den neutralen und alkalischen Keimbetten eine Abnahme des Befalls erkennen lässt. Umgekehrt verhalten sich die für gesund gebliebene Keimlinge zu beobachtenden Zahlen: sie sind im sauren Milieu sehr niedrig, mit abnehmender Azidität steigt die Anzahl der gesunden Pflänzchen dann an. Die Zahl der nur angekeimten Samen ist unter den kranken weit höher als unter den gesunden; offensichtlich vermochten erstere sich infolge des Pilzbefalls nicht weiter zu entwickeln.

Tabelle 7
Keimung von Mohnsamen aus befallenen Kapseln und Erkrankung der Keimlinge bei verschiedener Reaktion des Keimbettes
(% von 150 Samen in jeder pH-Stufe)

pH bei Versuchs- beginn	ungekeimt	angekeimt oder gekeimt			
		gesund		krank	
		angekeimt	gekeimt	angekeimt	gekeimt
3,0	100	0	0	0	0
3,4	10	0	0	90	0
3,8	11	0	5	82	2
4,0	5	0	8	31	56
4,6	2	0	13	20	65
5,0	2	3	13	15	67
5,8	0	1	26	14	59
6,0	3	1	27	15	54
6,2	5	1	24	21	49
7,0	3	2	29	13	53
8,0	4	1	21	10	64
9,2	3	1	26	12	58

Vergleichen wir diese Ergebnisse mit denen der oben wiedergegebenen Versuche über die Entwicklung des Schädlings bei verschiedener Reaktion der Nährösung, so läßt sich zwanglos eine Beziehung erkennen. Im sauren Substrat beobachten wir eine bessere Pilzentwicklung und eine größere Anzahl befallener Pflänzchen als im neutralen oder alkalischen Keimbett, also bei einer Reaktion, in der auch das Pilzwachstum geringer ist. Es kann so kein Zweifel bestehen, daß die Einwirkung der Substratreaktion auf den Keimlingsbefall ihre Hauptursache in der Förderung oder Hemmung der Pilzentwicklung hat. Die Entwicklung des Mohns wird nur in sehr stark saurem Keimbett ungünstig beeinflußt.

7. Ernährungsphysiologische Versuche

a) Hungerkulturen

In einem einleitenden Versuch wurde die Entwicklung des Pilzes in Wasser ohne jeden Nährstoffzusatz geprüft.

Die Aussaat der Konidien erfolgte in Aq. bidest. und zwecks mikroskopischer Kontrolle nicht in Kulturgefäßen, sondern auf dem hohlgeschliffenen Objektträger. Diese Kulturen wurden in der feuchten Kammer aufbewahrt. Nach 3 Wochen hatte der Pilz ein makroskopisch sichtbares Myzel hervorgebracht und auch einige Konidien gebildet. Hyphen und Konidien waren bedeutend schwächer entwickelt, als es sonst in Kulturen zu beobachten ist, indessen standen sie den an faulenden Mohnstengeln gefundenen an Größe nicht viel nach.

b) Mineralsalzernährung

In Versuchen über die Mineralsalzernährung des Pilzes wurde zunächst sein Wachstum auf einem Mineralagar ohne Kaliumzusatz geprüft. Das Substrat enthielt neben 6% Glukose als C-Quelle 2% Agar, 0,6% NH_4NO_3 und 0,15% $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$. Für die kaliumhaltigen Vergleichssubstrate wurden 0,3% KH_2PO_4 , für die kaliumfreien 0,3% NaH_2PO_4 zugefügt. Die entstehenden Kolonien wurden gemessen und ihr Wachstum in Abb. 18 festgehalten.

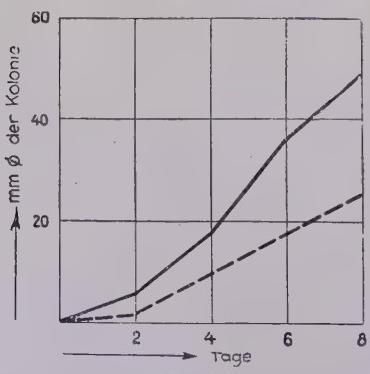


Abb. 18
Wachstum der Kolonien auf Mineral-Glukose-Agar (vgl. Text)
mit Kaliumzusatz = volle Linie
ohne Kaliumzusatz = gestrichelt

Die Darstellung zeigt, daß der Pilz auch auf den Nährböden ohne Kaliumzusatz recht gut zu gedeihen vermochte. Diese Kolonien hatten aber nicht nur in ihrer Ausdehnung den halben Durchmesser der Vergleichskulturen mit Kalium erreicht, sondern auch in der Dichte des Myzels etwa die halbe Stärke.

Nach der eben genannten Nährsalzkonzentration, bei der der Pilz sich recht gut entwickelte, wurden Variationen des Salzgehaltes geprüft. Neben einer schwächeren wurde eine stärkere Nährsalzlösung geboten, wie sie z. B. bei der Kultur der Fusarien verwendet wird (Hochapfel 1924).

Dem 2 prozent. Agar mit 3 prozent. Glukose wurden die Nährsalze in folgender Zusammensetzung zugesetzt:

	A	B
NH_4NO_3	2,0%	0,2%
KH_2PO_4	1,0%	0,1%
$\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$	0,5%	0,05%

Die Steigerung der Nährsalzkonzentration bewirkte — wie die Abb. 19 der 10 Tage alten Kultur zeigt — eine deutliche Hemmung der Entwicklung.

Zu dem gleichen Ergebnis führten auch gravimetrische Bestimmungen der Myzelien aus Flüssigkeitskulturen. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen in Agarkulturen war auch hier die Entwicklung bei hoher Nährsalzkonzentration schwächer, wie die nachstehend angeführten Erntergebnisse vom 10. Tage zeigen:

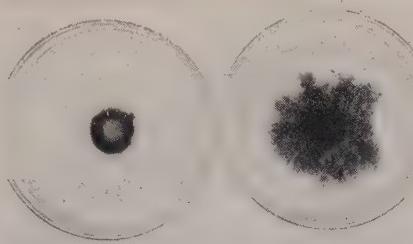
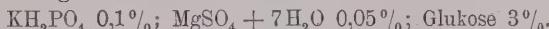


Abb. 19

Helminthosporium papaveris-Kulturen auf einem Mineral-Glukose-Agar, links bei hoher, rechts bei niedriger Nährsalzkonzentration, vgl. Text

	Nährsalzkonzentration	
	A	B
Myzelernten	21 mg 18 mg	36 mg 34 mg

Weitere Untersuchungen dienten schließlich der Feststellung des Nährwertes verschiedener anorganischer N-Quellen. In diesen Versuchen wurden nur Flüssigkeitskulturen verwendet. Die Grundlösung enthielt:



Diesem Substrat wurden verschiedene N-Salze in Mengen zugesetzt, die auf den N-Gehalt von 0,2% NH_4NO_3 eingestellt wurden. Alle Lösungen zeigten bei Versuchsbeginn ein pH von 3,8.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 wiedergegeben.

Tabelle 8

Myzelernten von Kulturen mit verschiedenen N-Salzen bei gleichem N-Gehalt; Trocken gewichte in mg nach 10tägiger Kultur bis 25°

Versuch Nr.	NH_4Cl 0,26%	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,33%	NH_4NO_3 0,2%	NaNO_3 0,42%	NaNO_2 0,34%	ohne N-Zusatz
1	38 mg	38 mg	37 mg	38 mg	—	19 mg
2	31 mg	34 mg	40 mg	41 mg	—	14 mg
3	36 mg	36 mg	33 mg	33 mg	—	15 mg

Abgesehen von den nitrithaltigen Kulturen, in denen kein Wachstum möglich war, entwickelte der Pilz mit allen N-Salzen ein gleich kräftiges Myzel, jedoch machten sich in den Lösungen unterschiedliche Reaktionsänderungen bemerkbar; auch zeigte die mikroskopische Untersuchung der entstandenen Myzelien Verschiedenheiten in der Ausbildung der Hyphen und in der Fruktifikation des Pilzes. Der pH-Wert der Kulturflüssigkeiten mit

NH_4Cl und $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ war von 3,8 auf 3,0 gesunken, in den NH_4NO_3 -Kulturen unverändert und in den Lösungen mit NaNO_3 auf pH 6,8 verschoben.

Noch deutlicher zeigten sich die physiologischen Unterschiede der Salze in der verschiedenen morphologischen Entwicklung des Pilzes. In den NH_4Cl -haltigen Lösungen bestanden die Hyphen aus blasigen Zellen. Mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ war ein Oidienmyzel ohne Konidien entstanden. Ähnlich war das Bild mit NH_4NO_3 , jedoch waren neben den Oidien auch Konidien zu beobachten. Waren in den eben genannten Lösungen nur Myzelflocken gebildet worden, so hatte der Pilz mit NaNO_3 im ganzen Flüssigkeitsraum ein diffuses Myzel und an der Oberfläche eine dichte, mit Konidien bedeckte Decke gebildet. Die Hyphenzellen wiesen normale Zellform auf, ohne Anschwellungen. Fetteinschlüsse waren in allen Kulturen reichlich zu beobachten.

Bemerkenswert ist schließlich noch das gute Wachstum des Pilzes in den Lösungen ohne Stickstoffzusatz.

e) Kohlenstoffernährung

Die als Kohlenstoffquellen geprüften Stoffe wurden einem Substrat zugefügt, das in allen Versuchen die Nährsalze im gleichen gegenseitigen Verhältnis enthielt, $\text{NH}_4\text{NO}_3 : \text{KH}_2\text{PO}_4 : \text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O} = 0,2 \text{ g} : 0,1 \text{ g} : 0,05 \text{ g}$ auf 100,0 g Substrat. Diese Menge sei im folgenden als einfache Nährsalzkonzentration bezeichnet. Außerdem wurden einige Versuche mit halber und andere mit dreifacher Konzentration der Nährsalze durchgeführt. Die für jede Kultur verwendete Substratmenge betrug 25,0 g.

Zunächst wurden dem Pilz verschiedene Zucker in Agarnährböden geboten und zwar in isotonischer Konzentration von $\frac{1}{4}$ Mol. Um die Zucker auch nach ihrem Nährwert (= Kohlenstoffgehalt) vergleichen zu können, wurden die Disaccharide außerdem gleichzeitig in der Konzentration von $\frac{1}{8}$ Mol angewandt. Als Maß des Wachstums der auf diesen Nährböden entstehenden Kolonien ist in Tabelle 9, in der das Ergebnis zusammengestellt ist, ihr Durchmesser in Millimeter angegeben.

Tabelle 9

Wachstum der Kolonien (mm ⌀) mit verschiedenen Zuckerarten als C-Quelle und einfaches Nährsalzzusatz, vgl. Text

Konzentration der Zucker	Zucker	mm Durchmesser der Kolonie nach				
		3	4	6	8	11
$\frac{1}{4}$ Mol	Dextrose	13	20	31	36	38
$\frac{1}{4}$ Mol	Fructose	11	20	31	38	52
$\frac{1}{4}$ Mol	Galaktose	13	20	28	36	39
$\frac{1}{4}$ Mol	Saccharose	13	18	26	30	37
$\frac{1}{4}$ Mol	Laktose	12	23	36	44	60
$\frac{1}{4}$ Mol	Maltose	7	11	18	22	28
$\frac{1}{8}$ Mol	Saccharose	13	20	29	36	45
$\frac{1}{8}$ Mol	Laktose	14	23	38	49	67
$\frac{1}{8}$ Mol	Maltose	8	12	19	24	31

Nach den Ergebnissen der Tabelle 9 stellen alle geprüften Zuckerarten brauchbare C-Quellen dar, jedoch bestehen gewisse Unterschiede. Wenn wir

den Durchmesser der Kolonien als Maß des Wachstums werten, so erscheint Maltose als ein schlechterer Nährstoff als andere Zucker. Laktose dagegen als besserer; indessen waren die Kolonien auf Laktose, auch mit Galaktose und Fruktose, auffallend locker. Die Disaccharid-Kulturen mit einem Zuckergehalt von $\frac{1}{8}$ Mol/l zeigten gegenüber denen mit $\frac{1}{4}$ Mol/l eine schwache Wachstumsförderung.

Da es also nicht möglich ist, auf Grund des Wachstumsbildes den Nährwert verschiedener Zuckerarten zu beurteilen, wurden auch hier Flüssigkeitskulturen angesetzt und die nach 10 Tagen entstandene Myzelmasse gewichtsmäßig festgelegt. Gleichzeitig wurde in den folgenden Versuchen nicht nur die Zuckerkonzentration sondern auch die der Nährsalze variiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Die Zuckerzusätze erfolgten diesmal nicht in Molarkonzentration sondern in Gewichtsprozenten, was bei der Auswertung zu berücksichtigen ist.

Tabelle 10
Erntegewichte (mg) am 10. Tage bei Variation der Zucker- und Nährsalzkonzentration
(Mittel aus 4 Kulturen).

Zucker	Nährsalzzusatz	mg Trockengewicht bei Zuckerzusätzen von				
		1%	5%	10%	15%	20%
Dextrose	dreifach	42	24	3	5	4
Dextrose	einfach	30	73	82	103	102
Dextrose	einhalb	32	38	43	36	30
Fruktose	dreifach	46	99	167	130	135
Fruktose	einfach	21	55	130	43	45
Fruktose	einhalb	17	22	31	25	29
Maltose	dreifach	40	81	75	86	80
Maltose	einfach	91	92	88	105	
Maltose	einhalb	42	45	83	96	70

Es zeigte sich, daß Maltose durchaus keinen geringeren Nährwert hat als die beiden anderen untersuchten Zuckerarten. Eine klare Gesetzmäßigkeit ist jedoch nicht zu erkennen, da das Wachstum gleichzeitig außerordentlich stark von der Nährsalzkonzentration abhängt. Auffallend sind vor allem die geringen Myzelgewichte in Dextroselösungen mit dreifachem Nährsalzgehalt und die besonders hohen Werte mit Fruktose unter den gleichen Bedingungen. Bei den Fruktosekulturen sieht es so aus, als ob der halbe Nährsalzgehalt zu gering war, um diesen Zucker voll auszunutzen. Auf Grund dieser Versuche ist es also nicht möglich, eine Rangfolge der drei untersuchten Zuckerarten aufzustellen.

Mit Zellulose als Kohlenstoffquelle wurden ebenfalls Versuche und zwar in Agarkulturen bei dreifacher Nährsalzkonzentration durchgeführt. Verwandt wurde Filtrierpapier Schleicher und Schüll Nr. 595. Es konnten keine Anzeichen beobachtet werden, daß Zellulose unter diesen Bedingungen als C-Quelle genutzt werden kann.

Bessere Ergebnisse brachten die Versuche mit Mohnöl als Kohlenstoffquelle. Es war von vornherein zu vermuten gewesen, daß Mohnöl einen geeigneten Nährstoff darstellt, weil das Wachstum des Pilzes gerade in den

Mohnkapseln und auf den Samen besonders üppig ist. Wir hatten früher schon darauf hingewiesen, daß die Entwicklung großer Konidien mit mehr als drei Septen auf diesen Substraten auf eine besonders gute Ernährung zurückzuführen sein dürfte.

Aus zerstoßenen Mohnsamen wurde durch Ätherextraktion ein Rohöl gewonnen, das einem Agarnährboden mit einfachem Mineralsalzgehalt zugesetzt wurde. Der kurz sterilisierte Nährboden wurde bis zum beginnenden Erstarren zur Bildung einer groben Emulsion geschüttelt.

Die Feststellung des Pilzwachstums erfolgte durch Messung der Koloniengröße bei gleichzeitiger Schätzung der unterschiedlichen Stärke der Myzel dichte. Das Wachstum der einzelnen Kolonien ist in Abb. 20 wiedergegeben; die Schätzung der Dichte in Tabelle 11.

Tabelle 11
Myzelentwicklung mit Mohnöl als Kohlenstoffquelle

Myzelstärke	Ölzusatz				
	0%	1%	2%	4%	8%
(+)	+++	++++	+++++	+++	++

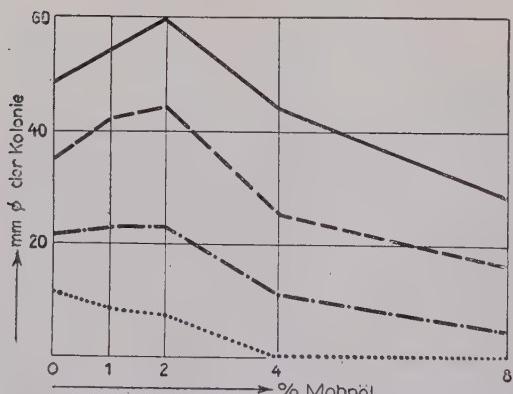


Abb. 20
Wachstum der Kolonie mit Mohnöl als Kohlenstoff-Quelle:
2. Tag = punktierte Linie
4. Tag = strich-punktiert
6. Tag = gestrichelt
8. Tag = volle Linie

vor allem ein überaus dichtes und üppiges Wachstum zu beobachten. Ein zu hoher Ölzusatz beeinflußt die Entwicklung des Pilzes ungünstig und schließlich erfolgt überhaupt keine Keimung der Konidien mehr.

d) Wachstum auf Dekokten von Mohnpflanzenteilen

Um das Wachstum des Pilzes auf Substraten zu prüfen, die aus Teilen der Wirtspflanze bereitet waren, wurden verwendet:

Mohnsamen,

reife Kapseln ohne Samen (Kapselstroh),

Aus Abb. 20 und Tabelle 11 geht hervor, daß Mohnöl eine brauchbare C-Quelle darstellt. Allerdings darf der Ölzusatz nicht zu hoch gewählt werden. Wenn auch ohne Kohlenstoffzusatz, wie aus Abb. 20 hervorgeht, ein deutliches Wachstum des Pilzes erfolgte, so zeigt doch Tabelle 11, daß dieses außerordentlich schwach war.

Die Kolonien bestanden nur aus vereinzelt und locker wachsenden Hyphen, so daß die gebildete Myzelmasse hier gegenüber den Mohnölkulturen nur sehr gering war. Bei einem 2prozent. Ölzusatz war nicht nur der Durchmesser der Kolonien größer, sondern

zur Blütezeit gesammelte, getrocknete Blätter,
alte Stengelteile, im Winter gesammelt.

Aus dem grob zerstoßenen Pflanzenmaterial wurde durch kurzes Aufkochen ein Auszug 1:10 hergestellt, der heiß filtriert und mit 2% Agar versetzt wurde. Diese Nährböden wurden in Petrischalen ausgegossen und in der Mitte beimpft. Die Entwicklung der Pilzkolonien zeigte wesentliche Unterschiede.

Am langsamsten war die Ausbreitung der Kolonien auf dem Dekokt aus Stengeln, am besten auf dem Kapselstrohdekokt. Samen- und Blattagar lieferten Zwischenwerte. Der verschiedene Nährwert der Substrate trat auch in der Art der Pilzentwicklung hervor. In dem Kapselstrohagar war nach 14 Tagen eine starke, bis 3 mm hohe Myzelschicht innerhalb des Nährbodens zu beobachten, aber nur ein sehr dünner Konidienrasen darüber. Mit Samendekoktagar war umgekehrt im Substrat nur eine sehr schwache Hyphen- schicht unter einer sehr starken graugrünen oder bräunlichen Konidiendecke zu bemerken.

8. Feststellung und Beurteilung des Pilzbefalls in Feldversuchen

Die Feststellung und Beurteilung des *Helminthosporium*-Befalls im Felde sind mit besonderen Schwierigkeiten verbunden, die sowohl durch die Viel- gestaltigkeit des Krankheitsbildes als auch durch das häufige Fehlen äußerer Symptome verursacht werden.

Die verschiedenen Krankheitsbilder werden von Christoff (1930) und Gassner (1949) eingehend geschildert. Ihre Mannigfaltigkeit entsteht dadurch, daß alle Teile der Mohnpflanze einschließlich der Samen in jeder Phase ihrer Entwicklung irgendwie befallen werden können. Erst mit dem Trockenwerden der Pflanze wird die Ausbreitung des Schädlings eingeschränkt, jedoch bieten auch abgestorbene Pflanzenteile bei ausreichender Wiederbeleuchtung dem Pilz die Möglichkeit zur Weiterentwicklung.

Nach den genannten Autoren und eigenen Beobachtungen lassen sich je nach dem Zeitpunkt, in dem die Infektion erfolgt oder die Erkrankung zum Ausbruch kommt, folgende Hauptfälle unterscheiden:

1. Keimlingsbefall. Die Pflanzen laufen nicht oder nur mangelhaft auf; sie zeigen bei der Übertragung in die feuchte Kammer die charakteristischen Konidienrasen unseres Pilzes. Als Infektionsquelle darf in den meisten Fällen mit den Samen übertragenes Pilzmaterial angesehen werden.

2. Erkrankung junger Pflanzen. Junge Pflanzen zeigen bei schwerem Befall Welkerscheinungen oder fallen infolge von Stengelfäule um. Als Infektionsquelle kommen Ascosporen von überwinternten Mohnstrohresten in Betracht, Übertragung des Pilzes mit den Samen oder, wie bei allen späteren Erkrankungen, durch Konidien von benachbarten kranken Pflanzen.

3. Blattfleckbildung. Sie ist bei grünen Blättern nicht sehr auffällig und tritt erst bei vergilbenden deutlicher hervor. Bei ausreichender Feuchtigkeit, vor allem nach Niederschlägen, entwickeln sich auf ihnen dann Konidienrasen.

4. **Vergilben von Blättern.** Stärker befallene Blätter sind durch ein helles, bleiches Grün gekennzeichnet, bei schwer befallenen Pflanzen können alle Blätter die Verfärbung erkennen lassen.

5. **Blattdürre an reifenden Pflanzen.** Nach anfänglich normaler Entwicklung vertrocknet die Mohnpflanze vorzeitig; dieses Krankheitsbild wird durch Zerstörung der Leitgewebe in den unteren Stengelabschnitten hervorgerufen.

6. **Störungen der Kapselbildung.** An schwer befallenen Pflanzen oder Trieben bleiben die Kapseln klein oder zeigen oft durch partielle Gewebeschädigungen hervorgerufene, anormale Wuchsformen. Diese Früchte sind auch meist dunkelgefärbt oder von Konidienrasen überzogen. Bei später Infektion der Kapseln, die meist über die Narbe erfolgt, fehlen Deformationserscheinungen.

7. **Erkrankungen ohne äußere Symptome.** Die Pflanzen entwickeln sich scheinbar gesund, jedoch erweist sich die Kapsel beim Öffnen durch zusammengeballte und festhaftende Samen sowie Myzelbildung im Innern als befallen.

In Bulgarien treten nach den Befunden Christoffs schon bald nach der Infektion vor allem schwere Krankheitssymptome auf und führen in der Regel schnell zur Vernichtung der Pflanze. Unter den deutschen klimatischen Verhältnissen ist das Absterben junger Pflanzen, das vorzeitige Vergilben und das Verkümmern der Kapseln nicht so häufig anzutreffen. Auch in Polen verläuft die Erkrankung nach Barbacka (1935) weniger heftig. So zeigte bei uns Saatgut, das sich im Petrischalenkeimbett als bis zu 100% befallen erwiesen hatte, im Felde doch noch ein verhältnismäßig gutes Auflaufen. Wie weit dabei die für den Pilz vielleicht ungünstigeren Entwicklungsbedingungen eine Rolle spielten, läßt sich schwer entscheiden. Wahrscheinlich kommt der Temperatur eine ausschlaggebende Bedeutung zu, nimmt doch nach Gassner die Erkrankung der Keimlinge mit dem Temperaturabfall ab.

Das häufige Fehlen schwererer oder jeglicher äußerer Krankheitssymptome, darf nicht dazu verleiten, auf eine bei uns geringere Verbreitung des Schädlings zu schließen. Gassner konnte aus mit befallenem Saatgut in Erde gezogenen Keimlingen in der feuchten Kammer jederzeit den Pilz hervorwachsen sehen und auch nach den im folgenden angeführten eigenen Beobachtungen ist die Verbreitung des Pilzes weit größer, als es die auftretenden Krankheitsfälle vermuten lassen.

Kurz vor der Blütezeit wurden sowohl schon etwas vergilbende als auch noch vollständig grün und gesund aussehende Pflanzen auf ihren Befall untersucht. Sie wurden dazu mit steriles Skalpell zerschnitten und die einzelnen Teile in der feuchten Kammer bei 25°C ausgelegt. Nach 10 Tagen zeigte sich, daß an allen Teilen aller untersuchten Pflanzen Konidienrasen entstanden waren. Vor allen Dingen war es überraschend, daß auch gesund aussehende Blätter den Pilz zeigten. Selbstverständlich besteht die Möglichkeit, daß sich Pilzkolonien erst in der feuchten Kammer aus schon im Felde angewehrten Konidien entwickeln, jedoch war andererseits ihr Auftreten so

regelmäßig, daß man mit einer Infektion rechnen muß. In der gleichen Weise wurden junge Mohnkapseln von äußerlich gesunden Pflanzen ein bis zwei Tage nach dem Abfallen der Blütenblätter geprüft. Sie wurden dazu durch zwei horizontale Schnitte mit einem in Alkohol desinfizierten Skalpell in drei Abschnitte geteilt und in der feuchten Kammer ausgelegt. Das Auftreten von Konidienrasen unseres Pilzes wurde als Befall gewertet. Über das Versuchsergebnis berichtet Tabelle 12.

Auch von diesen Früchten war also nur ein sehr geringer Teil noch myzelfrei, die Mehrzahl war schon mit Infektionsmaterial in Berührung gekommen. Die Zahlen sprechen für die weite Verbreitung des Pilzes. Auffallend bleibt, daß sich die Pflanzen bis zu dem Zeitpunkt der Untersuchung ohne Krankheitssymptome entwickelt hatten.

Wir können also nur sehr unsicher oder gar nicht aus dem äußeren Bild der Mohnpflanze auf das Vorhandensein des Pilzes schließen. Etwas leichter durchzuführen ist die Beurteilung des Erntegutes auf seinen *Helminthosporium*-Befall, jedoch sind auch hier gewisse Vorsichtsmaßnahmen zu beachten und Einschränkungen zu machen, wie nachstehende Beobachtungen lehren. Im Sommer 1946 war die Kapselernte einer kleinen Parzelle etwas vorzeitig eingebbracht worden, also zu einem Zeitpunkt, an dem die

Tabelle 12
Befall junger Mohnkapseln
(Untersuchte Kapseln = 58)

Art des Befalls	Zahl der Kapseln
1. nicht befallen	9
2. unterer Abschnitt stärker als die oberen .	3
3. alle Abschnitte gleichmäßig	12
4. oberster Abschnitt am stärksten	12
5. Konidienbildung nur außen an der Narbe .	22

Früchte noch nicht vollständig trocken waren. Die Kapseln sahen gesund aus, wurden im Zimmer auf Tischen zum Nachtrocknen ausgelegt und nach etwa 14 Tagen geöffnet, als sie vollständig abgetrocknet waren. Die Samen waren von den Plazenten abgefallen und füllten die unten liegende, seitliche Hälfte der Kapseln aus, die also beim Einbringen der Ernte bestimmt noch nicht vom Myzel durchwuchert gewesen waren. Beim Öffnen dagegen waren die Körner in fast allen Früchten, so wie sie gelagert hatten, von den Hyphen des Schädlings vollständig verfilzt. Früchte einer anderen Parzelle, die im Felde normal hatten reifen und abtrocknen können, zeigten keine entsprechende Pilzentwicklung im Innern. Äußerlich waren die Kapseln beider Parzellen nicht voneinander zu unterscheiden gewesen. Aus diesen Beobachtungen folgt, daß Früchte, die im Felde ohne Krankheitssymptome gereift wären, beim langsamem Trocknen dem Pilz noch gute Wachstumsbedingungen boten. Die Geschwindigkeit des Trocknungsvorganges kann also entscheidend für den Kapselbefall sein. Auf jeden Fall ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß der Schädling auch in gesund aussehenden Früchten verborgen ist.

Auf Grund dieser Erfahrungen muß die Forderung aufgestellt werden, im Felde nur reife Kapseln zu ernten und diese unmittelbar nach der Ernte zu prüfen. Ferner geht aus den Beobachtungen hervor, daß die Mohnfrüchte

bei vorzeitigem Einbringen, wie es heute vielfach auch in größeren Betrieben wegen der Diebstahlsgefahr vorgenommen wird, infolge der dadurch verzögerten Reife dem Pilzangriff besonders ausgesetzt sind. Diesbezügliche Beobachtungen mußten in einem landwirtschaftlichen Betrieb in Schöningen gemacht werden.

Was nun die Beurteilung des Befalls im Erntegut anbetrifft, so wurde hier in der von Gassner angegebenen Weise verfahren. Die im Felde vollständig abgetrockneten Kaspeln wurden durch Abschneiden des oberen Drittels geöffnet und die Samen durch leichtes Ausklopfen gewonnen. Es wurden vier Befallsgrade unterschieden, die als O, O⁺, + und ++ bezeichnet seien, und zwar besagt:

Bezeichnung:

Befund:

- O = gesund bzw. myzelfrei Alle Samen lose, keine Pilzhypfen, Kapsel gesund aussehend.
- O⁺ = Spurbefall . . . Einige Samen haften der Fruchtwand an, Pilzentwicklung nicht oder nur in Spuren sichtbar, Kapsel äußerlich normal.
- + = befallen . . . Größere Samenmengen haften der Fruchtwand an oder sind durch Myzelwucherungen verklumpt, Kapsel äußerlich meist noch normal.
- ++ = stark befallen . . Der größte Teil des Kapselinnern verpilzt, Samen zusammengebaut, oft geschrumpft, Kapsel häufig deformiert und außen meist von Konidienrasen überzogen.

Bei dem Myzel im Innern der Kapseln handelte es sich bei den hier beurteilten Ernten immer nur um *Helminthosporium*; die mikroskopische Kontrolle bereitet keine Schwierigkeiten, da stets auch Konidien anzutreffen sind.

Wenn es auch keinem Zweifel unterliegen kann, daß das in den Kapseln sich bietende Bild weitgehend dem Grad des Auftretens unseres Pilzes entspricht, so wurden doch — ebenso wie es auch Gassner getan hat — die aus den verschiedenen Befallsstufen stammenden Samen durch Auslegen in der feuchten Kammer (Petrischale mit Filtrierpapier) bei 25°C geprüft. Die Ergebnisse von zwei Versuchsreihen sind in Tabelle 13 enthalten; das geprüfte Saatgut ist eine Probe der aus allen Kaspeln der Befallsgrade O bzw. ++ erhaltenen Gesamtsamenernte (1946).

Tabelle 13
Keimbettprüfungen der Samen aus Kapseln der Befallsgrade O und ++, Ernte 1946
(ausgelegt je 8 × 50 = 400 Samen)

Tag der Prüfung	Saatgut aus Kapseln des Befallsgrades	ungekeimte Samen %	gekeimte Samen	
			gesund %	krank %
15. 2. 47	O	1,2	98,8	0
27. 7. 47	O	2,3	97,2	0,5
15. 2. 47	++	4,7	13,8	81,5
27. 7. 47	++	3,3	8,0	88,7

Der Unterschied im Befall ist unverkennbar. Im ersten Versuch traten beim Saatgut O überhaupt keine Keimlingserkrankungen auf, im zweiten wurde dagegen die Erkrankung verschiedentlich festgestellt. Nach Gassner kann der Befall der Keimlinge aus gesund erscheinenden Kapseln noch beträchtlicher sein. Wir berücksichtigen also, wenn wir hier von gesunden Kapseln sprechen, nur das dem Auge sich darbietende Bild und können nicht mit absoluter Sicherheit sagen, daß die aus diesen Früchten gewonnenen Samen vollständig pilzfrei sind. So deutet auch diese Einschränkung auf die Schwierigkeiten hin,

denen wir bei der Feststellung und Beurteilung der Erkrankung gegenüberstehen. Immerhin gibt die Bewertung des Kapselbefalls noch ein wesentlich sichereres und gleichzeitig wichtiges Maß für die Ausbreitung der Erkrankung, als es das Auftreten schwerkranker Pflanzen oder der verschiedenen Symptome darstellt.

9. Wasser- und Nährstoffversorgung in ihrer Bedeutung für das Auftreten der Erkrankung

a) Randwirkung

Am 18. April 1946 war auf dem Gelände der Biologischen Zentralanstalt in Braunschweig-Gliesmarode eine 200 qm große Parzelle mit infiziertem Saatgut von Strubes blauem Schließmohn bestellt worden. Bei einem Reihenabstand von 35 cm wurden die normal auflaufenden Pflanzen auf 12 cm ver einzelt. Sie entwickelten sich gut und ließen zunächst keine Krankheitssymptome erkennen. Mit fortschreitender Vegetation wurden dann zwischen den Rand- und Innenpflanzen der Parzelle Unterschiede deutlich, wozu bemerkt sei, daß der Bestand allseitig von Wegen umgeben war. Die Pflanzen in den Randreihen entwickelten sich kräftiger und verzweigten sich stärker. Als die Innenpflanzen schon zu vergilben begannen, zeigten die in den Außenreihen noch bis an die Basis grüne Blätter und eine Reihe später Blüten. Auch nach der Hauptblüte waren an den Randpflanzen noch keine schweren Krankheitssymptome zu erkennen.

Die Ernte erfolgte am 26. und 27. August und zwar reihenweise. Der Mohn war durchschnittlich 130 cm hoch; die Mehrzahl der Früchte war zu dieser Zeit ausgereift und vollständig abgetrocknet, doch wurden auch, vor allem in den Randreihen, kleine grüne Kapseln angetroffen. Früchte mit einem Querschnittsdurchmesser bis 25 mm wurden als klein, solche mit einem von 25—35 mm als mittel und alle mit einem darüber hinaus gehenden als groß bezeichnet. Aus Tabelle 14 ist die Größe der in den einzelnen Reihen geernteten Kapseln zu ersehen.

Tabelle 14
Anteil der kleinen, mittleren und großen Kapseln und ihr Reifegrad in den einzelnen Reihen¹⁾

Reihe Nr.	Kapsel- zahl gesamt	Kapseln (Zahl)			Kapseln (%)			noch grüne Kapseln	
		klein	mittel	groß	klein	mittel	groß	Zahl	%
(1) Randr.	386	126	85	175	32	22	45	145	38
2	342	86	76	180	25	22	52	58	17
3	372	79	77	216	21	20	58	74	19
4	321	69	70	182	21	21	56	25	7
5	295	64	76	155	21	25	52	49	16
6	358	76	95	187	21	26	52	95	26
7	360	87	78	195	24	21	54	45	12
9	299	71	62	166	23	20	55	73	24
10	329	80	58	191	17	24	58	64	19
(11)	284	51	71	162	18	24	57	25	12
(12)	329	71	74	184	21	22	55	42	12
(13)	179	50	34	95	28	19	53	21	11
(14) Randr.	280	98	60	122	35	21	43	162	57

¹⁾ Den in Klammern gesetzten Reihen waren zu Versuchszwecken während der Entwicklung der Pflanzen Kapseln entnommen worden; Reihe Nr. 8 ging bei der Ernte durch Diebstahl verloren.

Aus den Werten der Tabelle 14 geht hervor, daß der Anteil der kleinen Kapseln in den Randreihen 1 und 14 auffallend hoch ist. Diese Erscheinung wird zu einem großen Teil dadurch hervorgerufen, daß die Randpflanzen

stärker verzweigt sind und damit eine größere Anzahl von kleiner bleibenden Folgekapseln tragen als die Innenpflanzen. In der ebenfalls höheren Anzahl von bei der Ernte noch grünen Früchten kommt die verlangsamte Entwicklung dieser Pflanzen zum Ausdruck.

In offensichtlichem Zusammenhang mit der ungleichen Entwicklung der Rand- und Innenpflanzen stehen die bei der Reife der Früchte sichtbar gewordenen Unterschiede im *Helminthosporium*-Befall. Wie

Abb. 21
Kapselernte von den Randpflanzen (rechts) und von einer Innenreihe (links)

Abb. 21 zeigt, hatten die Pflanzen in den Innenreihen überwiegend große, hellgelb und gesund aussehende Kapseln hervorgebracht, während bei der Randreihenernte solche mit dunkler Färbung, Mißbildungen und Pilzflecken das Bild bestimmten. Noch deutlicher wurden diese Unterschiede bei der Untersuchung der Kapseln. Die Früchte wurden innerhalb weniger Tage nach der Ernte geöffnet und ihr Befall nach dem Grad der Verpilzung im Innern, wie weiter oben beschrieben, beurteilt. Die Ergebnisse sind zahlenmäßig in Tabelle 15 und zur besseren Hervorhebung der Unterschiede prozentual in der graphischen Darstellung Abb. 22 wiedergegeben.

Nach diesen Befunden haben die Randpflanzen einen wesentlich höheren Anteil sowohl an stark als auch an mittel und schwach erkrankten Kapseln, während gesunde Früchte bei ihnen geradezu zu den Ausnahmen gehören. Umgekehrt zeigen die Ernten der Innenreihen einen hohen Anteil gesunder Kapseln und einen weit geringeren an stark befallenen. Die Unterschiede sind in jeder Weise eindeutig. Damit ist festgestellt, daß die Standortverhältnisse maßgebend den Befall der Kapseln beeinflussen. Die gleichen Bedingungen, die die üppigere und vor

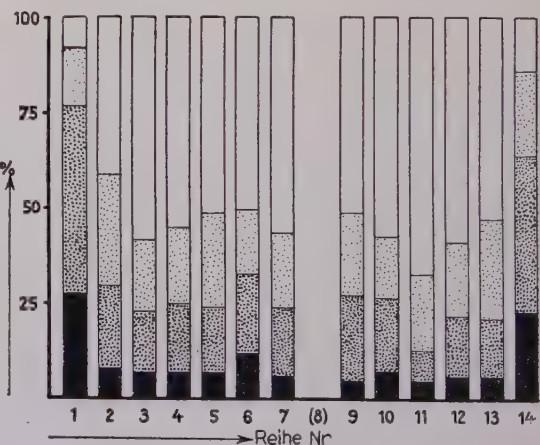


Abb. 22
Unterschiedliche Erkrankung der Mohnkapseln in den einzelnen Reihen der Parzelle:
weiß = anscheinend gesund (O)
schwach punktiert = Spur eines Befalls (O+)
dick punktiert = Befall schwach bis mittel (+)
schwarz = stark befallen (++)

geringeren an stark befallenen. Die Unterschiede sind in jeder Weise eindeutig. Damit ist festgestellt, daß die Standortverhältnisse maßgebend den Befall der Kapseln beeinflussen. Die gleichen Bedingungen, die die üppigere und vor

allem langsamere Entwicklung der Randpflanzen verursachen, müssen für die stärkere Erkrankung verantwortlich gemacht werden. Hierbei ist in erster Linie an die erhöhte Nährstoff- und Wasserversorgung der Randpflanzen zu denken. Ihnen stand der Vorrat des vegetationsfrei gehaltenen Weges zusätzlich zur Verfügung und so waren sie bezüglich der Wasser- und Nährstoffversorgung wesentlich besser

gestellt als die Innenpflanzen. Auch die Lichtverhältnisse waren günstiger. Dementsprechend entwickelten sich die Randpflanzen üppiger, aber auch langsamer.

Von diesen Beobachtungen ausgehend, wurden 1947 größere Versuche angelegt, in denen der Einfluß verschiedener Standweiten auf das Auftreten der Erkrankung genauer untersucht wurde. Die Randwirkung war auch im zweiten Anbaujahr an allen Parzellen festzustellen. Um die Darstellung jedoch nicht zu umfangreich zu gestalten, sind die zahlenmäßigen Befunde nicht hier, sondern bei der folgenden Besprechung der Standraumversuche in den Tabellen 16—20 wiedergegeben.

b) Standraumversuche

Über den Einfluß der Ernährungsbedingungen auf die Entwicklung des Mohns liegen vor allem von Mader (1928), Prochaska (1930), Spennemann (1936) und von v. Boguslawski (1941) Angaben vor. Alle Autoren stimmen darin überein, daß Unterschiede der Standraumverhältnisse einen deutlichen Einfluß auf die Entwicklung und den Habitus der Pflanze ausüben und insbesondere Größe der Kapseln und Zahl der Achsen bestimmen. Ganz allgemein gilt die Regel, daß mit zunehmender Standweite Achsenzahl und Größe der Früchte ansteigen. Selbstverständlich spielen außerdem auch Sorteneigentümlichkeiten eine Rolle. Was die Kapselgröße anbetrifft, ist schließlich zu berücksichtigen, daß der zuerst aufblühenden Knospe zumeist die größte Frucht entstammt, dann folgen dem Altersrang nach in ihrer Entwicklung absteigend die übrigen.

Genauere Untersuchungen über die Abhängigkeit der Entwicklung des Mohns von dem Standraum verdanken wir vor allem Mader. Er prüfte den Ertrag bei Standweiten, die einer Dichte von 57, 48, 24 und 14 Pflanzen je Quadratmeter entsprechen. Dabei zeigte es sich, daß mit sinkender Pflanzenzahl je Flächeneinheit die Kapselzahl der einzelnen Pflanze, der Samenertrag der einzelnen Pflanze und der Samenertrag der einzelnen Kapseln gesetzmäßig ansteigen. Aus diesen Gründen bleibt der Flächenertrag weitgehend konstant.

Tabelle 15
Zahlenmäßige Verteilung der Kapseln auf die unterschiedenen Befallsgrade

Reihe Nr.	Anzahl der Kapseln in den Befallsgraden			
	○	○+	+	++
1 (Rand)	29	60	188	108
2	143	98	74	27
3	214	71	59	28
4	179	64	54	24
5	152	72	49	22
6	182	61	74	41
7	205	67	63	25
9	152	66	65	16
10	188	53	63	25
11	190	57	22	15
12	197	61	52	19
13	94	49	26	16
14 (Rand)	42	62	113	63

Bei stärkerer Verzweigung mit 3—5 Achsen findet dann, wie v. Boguslawski feststellte, wohl noch eine Zunahme des Gesamtgewichts der Pflanze statt, aber der Samenertrag der Einzelpflanze kann nicht weiter erhöht werden; er bleibt etwa gleich, während das Samengewicht je Kapsel sogar abnimmt. Dadurch geht bei zu geringer Pflanzenzahl je Flächeneinheit schließlich der Flächenertrag zurück.

Die Anlage der von uns durchgeführten Standaumversuche erfolgte am 23. April 1947 mit einer Samenmischung der Befallsqualitäten O und ++ zu gleichen Teilen. Sie wurde wie folgt vorgenommen:

Bezeichnung	Reihenabstand	Pflanzenabstand in den Reihen	Pflanzen je Quadratmeter
eng	20 cm	10 cm	50
mittel	30 cm	15 cm	22
weit	40 cm	20 cm	12

In den ersten Wochen entwickelten sich die Pflanzen in allen Parzellen gleichmäßig. Zur Blütezeit ergaben sich deutliche Unterschiede, indem die Mohnpflanzen in den eng gesäten Kulturen nicht die Höhe und Üppigkeit der übrigen erreichten und früher blühten, dementsprechend reiften sie auch schneller.

Die Ernte erfolgte am 6. August, als auch die Früchte der Parzellen mit weitem Standaum reif und gut abgetrocknet waren. Da für einwandfreie Ertragsbestimmungen nur die Pflanzen der inneren Bestände verwendet werden konnten, wurden die Kapseln der Randreihen getrennt eingebbracht und bei der Auswertung für sich berücksichtigt. Zwischen den Randreihen der einzelnen Parzellen waren keine wesentlichen Unterschiede im Ertrag und Befall zu erkennen, so daß sie zusammengefaßt ausgewertet werden konnten.

Über die Anzahl der bei verschiedener Standweite geernteten Kapseln berichtet Tabelle 16.

Tabelle 16
Kapselzahl des Mohns bei verschiedener Standweite, berechnet auf 100 Pflanzen

	Standweite mit Pflanzen je qm			Randpflanzen
	eng 50	mittel. 22	weit 12	
Kapselzahl von 100 Pflanzen . . .	108	127	144	199

Wir sehen eine deutliche Zunahme der Kapselzahl mit zunehmendem Standaum. Noch größer als in den Parzellen mit weitestem Pflanzenabstand war sie in den Randreihen.

Die Ergebnisse der Tabelle 16 sind — ebenso wie einige spätere — zu Vergleichszwecken zusammen mit denen von Mader graphisch dargestellt (Abb. 23). Das Verhältnis von Kapselzahl zur Standweite stimmt danach in beiden Befunden grundsätzlich überein, indem die Anzahl der erzeugten Früchte mit zunehmendem Standaum ansteigt. Allerdings erfolgt die Zunahme bei Mader wesentlich stärker als nach unseren Beobachtungen. Als Ursache dürften Unterschiede der Mohnsorten, des Klimas oder der Bodenverhältnisse

in Betracht kommen. Der von Mader angebaute „Hatvaner Mohn“ hat offensichtlich ein stärkeres Verzweigungsvermögen, als Strubes Schlanstedter Schließmohn. Ferner ließen unsere Versuche auf einem verhältnismäßig leichten, lehmigen Sandboden, während Mader vermutlich besseren Boden zur Verfügung hatte. Schließlich waren die Witterungsverhältnisse des trocknen und heißen Sommers 47 anomal und beeinträchtigten die Entwicklung unserer Pflanzen.

Über die Zahl der auf je 40 qm Anbaufläche geernteten Kapseln, sowie den Anteil der kleinen, mittleren und großen Früchte an der Ernte, unterrichtet Tabelle 17.

Bei engem Standraum finden wir mit 2130 Kapseln annähernd doppelt soviel Früchte wie bei mittlerem und etwa dreimal so viel wie bei weitem Standraum. Die bei engen Pflanzenabständen gebildeten Kapseln sind aber ganz überwiegend klein. Mit zunehmender Standweite steigt dann der Prozentsatz der großen zunächst an. Auffallend ist hier, daß bei weitem Abstand die Zahl der großen und mittleren Kapseln nicht weiter zunimmt, sondern zurückgeht. Was die Pflanzen in den Randreihen anbetrifft, so zeigen diese annähernd das gleiche Verhalten wie die mit weitem Standraum.

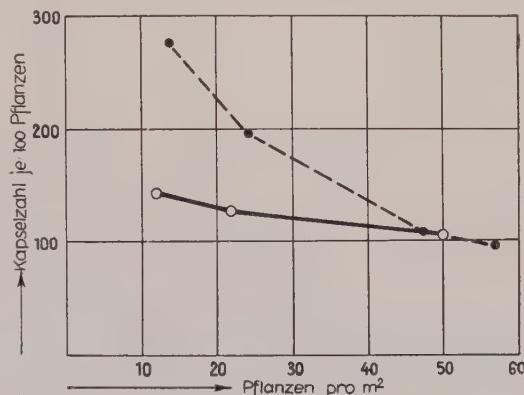


Abb. 23
Einfluß der Standweite auf die Kapselzahl von 100 Pflanzen,
bei krankem Mohn nach eigenen Befunden = volle Linie,
bei gesundem Mohn nach Mader (1928) = gestrichelt

Die bei engen Pflanzenabständen gebildeten Kapseln sind aber ganz überwiegend klein. Mit zunehmender Standweite steigt dann der Prozentsatz der großen zunächst an. Auffallend ist hier, daß bei weitem Abstand die Zahl der großen und mittleren Kapseln nicht weiter zunimmt, sondern zurückgeht. Was die Pflanzen in den Randreihen anbetrifft, so zeigen diese annähernd das gleiche Verhalten wie die mit weitem Standraum.

Tabelle 17

Anzahl der kleinen, mittleren und großen Kapseln bei verschiedenem Standraum, berechnet auf 40 qm

Versuchsanordnung	Pflanzen je qm	geerntete Kapseln			
		klein	mittel	groß	gesamt
eng	50	1544	550	36	2130
mittel	22	388	473	268	1130
weit	12	442	229	49	720
		%	%	%	
eng	50	72,5	25,8	1,7	
mittel	22	34,4	41,8	23,7	
weit	12	61,4	31,8	6,8	
Randpflanzen		974	351	93	1418
		68,7 %	24,8 %	6,5 %	

Die Samenerträge, berechnet auf 100 Pflanzen, sind in Tabelle 18 zusammengestellt.

Tabelle 18
Samenerträge bei verschiedenem Standraum

	Standraum (Pflanzen je qm)			Randpflanzen
	eng (50)	mittel (22)	weit (12)	
100 Kapseln lieferten . . .	91g	174g	144g	95g
100 Pflanzen „ „ „	97g	222g	180g	188g

Der Ertrag von 100 Kapseln steigt bei Erweiterung des Standraumes von eng nach mittel auf etwa das Doppelte an, um bei weiter stehenden Pflanzen deutlich zu sinken. Der Ertrag von 100 Pflanzen (zweite Reihe der Tabelle 18) zeigt ein ähnliches Verhalten.

Um einen Vergleich mit den von Mader gefundenen Werten zu ermöglichen, sind unsere Ergebnisse denen von Mader in Abb. 24 und Abb. 25 graphisch gegenübergestellt. Mader findet (Abb. 24) bei zunehmender Pflanzendichte einen schwachen aber gleichmäßigen Abfall der Samenerträge von 100 Kapseln. In unseren eigenen Versuchen haben wir eine typische Optimumskurve; ein Ansteigen der Samenausbeute mit Zunahme der Pflanzenzahl von 12 auf 22 und ein Sinken des Ertrages bei weiterem Anstieg der Standdichte auf 50 Pflanzen je Quadratmeter. Unsere Beobachtungen decken sich also nur teilweise mit denen von Mader.

In der Spanne zwischen 22 und 50 gehen die Befunde parallel, dagegen haben wir in unseren Untersuchungen bei geringerer Pflanzenzahl je Quadratmeter ein deutliches Zurückgehen des 100-Kapselertrages.

Ein ähnliches Bild ergibt sich, wenn wir den Samenertrag von 100 Pflanzen in seiner Abhängigkeit von der Standweite bei Mader und bei uns vergleichen (Abb. 25): Bei Mader ein gleichmäßiges Abfallen des Ertrages mit steigender Pflanzenzahl je Quadratmeter, bei uns zunächst ein Ansteigen

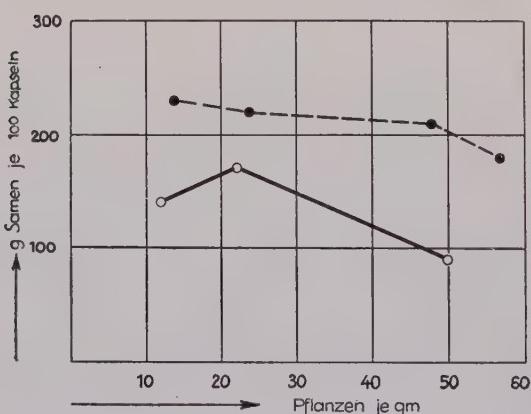


Abb. 24

Einfluß der Standweite auf den Samenertrag von 100 Kapseln,
bei krankem Mohn nach eigenen Befunden = volle Linie,
bei gesundem Mohn nach Mader (1928) = gestrichelt

der Ausbeute bei Erhöhung der Standdichte von 12 auf 22 Pflanzen je Quadratmeter und erst bei weiterer Verkleinerung der Abstände ein Sinken des Samenertrages.

Betrachten wir nun zunächst den *Helminthosporium*-Befall unserer Parzellen, dessen Höhe aus der in Tabelle 19 dargestellten Erkrankung der Kapseln zu entnehmen ist. Aus diesen Befunden geht hervor, daß mit zunehmenden Pflanzenabständen die Zahl der Früchte mit mittlerem und

schwerem Befall ganz gesetzmäßig ansteigt, während sich die der gesunden verringert. Die Unterschiede sind recht beträchtlich: Während bei geringen Pflanzenabständen 63,7% gesunde Früchte geerntet wurden, sank dieser Anteil in den weit angelegten auf 20,2%, in den Randreihen sogar auf nur 11,1%.

Die gleiche Gesetzmäßigkeit zeigen die in Tabelle 20 angeführten Samenerträge: Bei geringer Standweite entstammen 73,8% der gewonnenen Samen gesund aussehenden Früchten, bei weitem Stand 35,6% und in den Randreihen nur 27,6%.

Diese Beobachtungen über den unterschiedlichen Befall unserer Parzellen müssen nun zur Erklärung der Unterschiede zwischen den von Mader und von uns vorliegenden Ertragsergebnissen herangezogen werden. Der relativ gesund gebliebene Mohn unserer mit engen und mittleren Pflanzenabständen angelegten Kulturen erbrachte noch Samenernten, die den von Mader gefundenen Gesetzmäßigkeiten entsprechen. Bei weitem Abstand jedoch rief die wesentlich schwerere Erkrankung eine hohe Ertragsdepression hervor. Die sonst von gesundem Mohn bei Standraumerweiterung zu erwartende Erhöhung der Samenausbeute wird durch den schwereren *Helminthosporium*-Befall in das Gegenteil verkehrt. Dieser Ertragsrückgang ist vor allem darauf zurückzuführen, daß die Folgekapseln, die sonst bei gesundem, weit stehendem Mohn die Erhöhung der Samenernte bringen, bei Pflanzen in erkrankten Kulturen wohl noch angelegt werden, aber nicht mehr zur vollen Entwicklung gelangen.

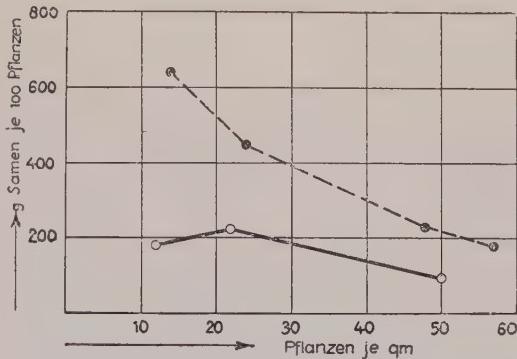


Abb. 25
Einfluß der Standweite auf den Samenertrag von 100 Pflanzen,
bei krankem Mohn nach eigenen Befunden
= volle Linie,
bei gesundem Mohn nach Mader (1928)
= gestrichelt

Tabelle 19

Befall der Kapseln bei verschiedenem Standraum, Ernte berechnet auf 40 qm

	Pflanzen je qm	Geerntete Kapseln				gesamt	
		in den Befallsgraden					
		○	○+	+	++		
eng.	50	1357	396	234	143	2130	
mittel	22	507	284	217	122	1130	
weit	12	145	185	271	119	720	
		%	%	%	%		
eng.	50	63,7	18,6	11,0	6,7		
mittel	22	44,9	25,1	19,2	10,8		
weit	12	20,2	22,7	37,6	16,5		
Randpflanzen		157	259	596	406	1418	
		11,1%	18,3%	42,0%	28,6%		

Die Standraumversuche bestätigen die auf Grund der Beobachtungen des Vorjahres getroffene Feststellung, daß Standortfaktoren ein entscheidender Einfluß auf den Befallsgrad zukommt. Die gleichen Bedingungen, die mit zunehmender Standweite der Pflanze eine üppigere und längere Vegetation ermöglichen, bringen eine schwerere Erkrankung der Kapseln und einen entsprechenden Rückgang des Samenertrages mit sich. Nach diesen Befunden erscheint es empfehlenswert, in allen Fällen, in denen mit *Helminthosporium*-Befall des Mohns zu rechnen ist, enge Pflanzenabstände zu wählen, die ein schnelles Abreifen des Mohns gewährleisten.

e) Anbau mit Unterfrucht

Zur Ergänzung der Standraumversuche wurden gleichzeitig einige Kulturen mit Zuckerrüben bzw. Buschbohnen als Unterfrucht angelegt. In den Kontrollparzellen wurde der Mohn in einem Reihenabstand von 30 cm gedrillt und auf 15 cm verzogen. In den Versuchsparzellen wurden die Mohnreihen in 60 cm Abstand angelegt und jeweils zwischen zwei Reihen eine Reihe Zuckerrüben gesät oder Bohnen gelegt. Die Aussaat des Mohns und der Rüben erfolgte am 23. April, die Bohnen wurden am 12. Mai nachgelegt.

Tabelle 20
Samenernte je 40 qm aus den in Tabelle 19 angeführten Kapseln

Versuchsanordnung	Pflanzen je qm	geerntete Samenmenge				gesamt	
		in den Befallsgraden					
		○	○+	+	++		
eng	50	g	g	g	g		
mittel	22	1430	360	120	30	1940	
weit	12	1190	480	250	40	1960	
		320	300	240	40	900	
		%	%	%	%		
eng	50	73,8	18,5	6,2	1,5		
mittel	22	60,7	24,5	12,8	2,0		
weit	12	35,6	33,3	26,7	4,4		
Randpflanzen.		370 g	380 g	480 g	110 g	1340	
		27,6%	28,4%	35,8%	8,2%		

Da die Rüben sich langsamer entwickelten als der Mohn und auch die Bohnen ihre Entwicklung später begannen, hatten die Mohnpflanzen in den Parzellen mit Unterfrucht mehr Standraum zur Verfügung als die in den Kontrollparzellen. So zeigten die Kontrollpflanzen bei der Ernte 127 Kapseln je 100 Pflanzen, die zwischen Rüben 178 und die zwischen Bohnen sogar 195.

Der Pilzbefall der geernteten Kapseln ist in Tabelle 21 wiedergegeben. Die Ernten sind auf 40 qm berechnet. Bei ihrer Beurteilung ist zu berücksichtigen, daß die Zahl der Mohnreihen in den Parzellen mit Unterfrucht nur halb so groß war wie in den Kontrollen.

Der Anteil der gesunden Früchte ist in den Kontrollparzellen am höchsten; in den Kulturen mit Rüben geht er auf etwa zwei Drittel, in den mit Bohnen auf annähernd die Hälfte herab.

In Tabelle 22 ist der in den verschiedenen Parzellen geerntete Samenertrag zusammengestellt.

Tabelle 21
Erkrankung der Kapseln beim Anbau des Mohns mit Unterfrucht,
Ernte berechnet auf 40 qm

Versuchsanordnung	geerntete Kapseln				gesamt	
	in den Befallsgraden					
	○	○ ⁺	+	++		
Kontrollparzellen	504	284	217	122	1130	
zwischen Rüben	242	213	186	134	775	
zwischen Bohnen	214	213	284	170	881	
	%	%	%	%		
Kontrollparzellen	44,9	25,1	19,2	10,8		
zwischen Rüben	31,2	27,5	24,0	17,3		
zwischen Bohnen	24,3	24,2	32,2	19,3		

Tabelle 22
Samenernte auf 40 qm aus den in Tabelle 21 angeführten Kapseln

Versuchsanordnung	geerntete Samenmenge				gesamt	
	in den Befallsgraden					
	○	○ ⁺	+	++		
	g	g	g	g		
Kontrollparzellen	1190	480	250	40	1960	
zwischen Rüben	450	310	160	30	950	
zwischen Bohnen	420	310	200	40	970	
	%	%	%	%		
Kontrollparzellen	60,7	24,5	12,8	2,0		
zwischen Rüben	47,4	32,6	16,9	3,1		
zwischen Bohnen	43,3	32,0	20,6	4,1		

Während in den Kontrollparzellen 60,7% der Samen gesund aussehenden Früchten entstammten, waren es zwischen Rüben nur 47,4% und zwischen Bohnen nur 43,3%. Der Flächenertrag ging in den Parzellen mit Unterfrucht auf die Hälfte zurück, entsprechend der geringeren Zahl der Mohnpflanzen. Obwohl der Mohn also in den Kulturen mit Unterfrucht bessere Entwicklungsbedingungen vorfand als in den Kontrollparzellen und auch noch seine Achsenzahl entsprechend erhöhte, vermochte er wegen des stärkeren *Helminthosporium*-Befalls nicht, seinen Samenertrag zu vergrößern.

In Tabelle 23 sind die Samenernten berechnet auf 100 Kapseln und 100 Pflanzen wiedergegeben.

In seinem 100-Pflanzen-ertrag vermochte der Mohn in den Parzellen mit Unterfrucht

Tabelle 23
Samenertrag beim Anbau mit Unterfrucht

Versuchsanordnung	g Samen von	
	100 Kapseln	100 Pflanzen
Kontrollparzellen . . .	174	222
zwischen Rüben . . .	123	214
zwischen Bohnen . . .	112	218

auf Grund der stärkeren Verzweigung noch die Werte der Kontrollpflanzen zu erreichen; im 100-Kapselertrag ist eine deutliche Depression zu beobachten.

Die Beobachtungen beim Anbau befallenen Mohns mit Unterfrucht stimmen mit den in den Standraumversuchen dargelegten Gesetzmäßigkeiten durchaus überein und lassen sich nach dem dort Gesagten ungezwungen erklären.

10. Der Einfluß von Saatzeit und Witterung

Um den Einfluß der Saatzeit auf die Höhe der Erkrankung festzustellen, wurden (1947) drei verschiedene Aussaaten an folgenden Tagen vorgenommen: Frühe Aussaat am 21. April, mittelspäte am 5. Mai, späte am 19. Mai. Als Saatgut wurde, wie in den übrigen Versuchen, eine Mischung der Befallsgrade O und ++ zu gleichen Teilen verwendet. Der Reihenabstand betrug 30 cm, innerhalb der Reihen wurden die Pflanzen auf 15 cm vereinzelt.

Während die Pflanzen der beiden ersten Aussaaten gleichmäßig gut aufliefen, hatten die der letzten infolge Trockenheit Aufgangsschwierigkeiten. Die Entwicklung des Mohns war entsprechend der Saatzeit verschoben: Die Pflanzen der frühen Aussaat blühten in der Zeit um die erste Juliwoche, die der mittleren in der zweiten bis dritten und die der späten am Ende des Monats. Die Ernte der Kapseln erfolgte am 6. August (früh), 9. August (mittel) und 16. August (spät). Die Früchte der späten Pflanzen mußten etwas vorzeitig eingebbracht werden, sie trockneten jedoch schnell nach, so daß ihre Auswertung schon 2–3 Tage nach der Ernte abgeschlossen werden konnte.

Über den Pilzbefall der Kapseln berichtet Tabelle 24. Aus den Befunden geht hervor, daß die Erkrankung bei den Kapseln der mittelspäten und späten Pflanzen schwach aber deutlich zunimmt. Es ist schwer, das Ergebnis eindeutig zu erklären. Eine Rolle bei seinem Zustandekommen dürfte die mit dem Fortschreiten der Jahreszeit zunehmende Verstärkung der Infektionsherde spielen, wodurch Infektionsgefahr und -Intensität ansteigen. Auch mit einer Einwirkung der Temperatur, die während der Vegetation der späten Pflanzen höher ist, ist zu rechnen. Die größere Wärme dürfte sowohl die Entwicklung des Schädlings als auch seine Aggressivität günstig beeinflussen.

Tabelle 24
Befall der Kapseln bei verschiedener Standweite, Ernte berechnet auf 40 qm

Saatzeit	geerntete Kapseln				gesamt	
	in den Befallsgraden					
	O	O ⁺	+	++		
früh	497	296	236	115	1142	
mittel	391	245	194	153	984	
spät	343	205	214	163	924	
	%	%	%	%		
früh	43,5	25,8	20,6	10,1		
mittel	39,7	24,9	19,7	15,5		
spät	37,1	22,2	23,1	17,6		

Unsere Versuche liefen in zwei Jahren, die sich in ihrer Witterung stark unterschieden. Dem feuchten und verhältnismäßig kühlen Sommer 1946 stand der ausgesprochen trockene und heiße des Jahres 1947 gegenüber. Die Vegetationszeit des Mohns wurde dementsprechend von 132 Tage (1946) auf 107 Tage (bei der frühen Aussaat 1947) verkürzt. Die Entwicklung der Pflanzen war im ersten Anbaujahr erheblich besser als im zweiten.

Der Befall der beiden Ernten ist in Tabelle 25 gegenübergestellt. Der Vergleich zeigt, daß trotz der starken witterungsmäßigen Unterschiede die Erkrankung der geernteten Kapseln im wesentlichen gleich war. Eine eindeutige Erklärung dieses Befundes und damit ein sicherer Rückschluß auf den Einfluß der Witterungs faktoren ist auf Grund der vorliegenden Ergebnisse nicht möglich, da in beiden Jahren nicht gleich stark infiziertes Saatgut verwendet wurde. Die Anzahl der schwer erkrankten, schon vor der Blüte vernichteten Pflanzen war im zweiten Anbaujahr höher als im ersten. Dagegen waren die Myzelwucherungen innerhalb der Kapseln in dem zweiten, trockenen Jahr weitaus geringer als in dem niederschlagsreichen; selbst in Früchten, die die typischen Wachstumsanomalien zeigten, war oft relativ wenig Myzel anzutreffen. Ohne Zweifel hat also das frühe und schnelle Abtrocknen der Pflanzen die endophytische Ausbreitung des Parasiten eingeschränkt.

Der Unterschied im Ertrag des Mohns (Tabelle 25, unten) in den beiden Beobachtungsjahren war beträchtlich; hierfür ist jedoch weniger der Pilz als die Witterung verantwortlich zu machen.

Tabelle 25

Vergleich der Ernten beider Anbaujahre und ihres Befalls, berechnet auf 100 qm
Die Standweite betrug je qm 23 Pflanzen (1946) und 22 (1947).

Jahr	Ernte	gesamt	davon in den Befallsgraden			
			○	○ ⁺	+	++
1946	Kapseln	2670	1271	538	581	280
1947	Kapseln	2867	1268	713	585	301
1946	Samen, g	9850	5440	2160	1810	440
1947	Samen, g	4930	2980	1210	630	110
			%	%	%	%
1946	Kapseln		47,5	20,2	21,8	10,5
1947	Kapseln		44,2	24,9	20,4	10,5
1946	Samen		55,2	21,9	18,4	4,5
1947	Samen		60,4	24,6	12,8	2,2
1946	Mittel pro Kapsel, g .	3,7	4,3	4,0	3,1	1,6
1947	Mittel pro Kapsel, g .	1,7	2,3	1,7	1,2	0,4

11. Über die Ertragsminderung durch *Helminthosporium*

Obwohl mehrfach über starke Schäden durch *Helminthosporium* berichtet wird (Christoff, Gassner), fehlen noch jede Zahlenangaben. Es ist auch schwer, den tatsächlichen Ertragsausfall zu erfassen. Der sonst übliche Weg der vergleichenden Ertragsbestimmung ist nicht gangbar, da die

Anfälligkeit des Mohns so hoch ist und die Übertragung von Infektionsmaterial so leicht erfolgt, daß es nicht möglich ist, Vergleichskulturen neben infizierten gesund zu erhalten. Wie Gassner fand, zeigen benachbarte Parzellen stets praktisch den gleichen Befall. So können wir nur indirekt auf den Schaden schließen.

Die Zahl der vorzeitig vernichteten Mohnpflanzen ist unter den deutschen klimatischen Verhältnissen meist gering und bewegte sich in unseren Anbauversuchen um einige Prozent. Diese Verluste dürfen wohl in der Regel vernachlässigt werden, da die benachbarten Pflanzen in dem frei werdenden Raum günstigere Entwicklungsbedingungen finden, wodurch der Flächenertrag meist wieder ausgeglichen wird.

Von größerer Bedeutung ist die Herabsetzung des Samenertrages. Aus der oben angeführten Tabelle 25 war zu ersehen gewesen, daß der mittlere Körnertrag der Kapsel mit dem Anstieg des Befallgrades von O nach ++ stark abnimmt. Hierzu ist zu bemerken, daß der relative Anteil der kleinen Früchte in den Befallsgraden von 16% (O) auf 73% (+++) ansteigt und daß unter den kleinen Kapseln sehr viele Folgekapseln anzutreffen sind, die an sich schon kleiner bleiben und als Folge ihrer späten Entwicklung häufiger befallen sind als die primären Früchte. So ist also weder das Sinken der Kapselgröße innerhalb der Befallsgrade von O nach ++, noch der Rückgang der Samenausbeute eindeutig auf den Pilzeinfluß zurückzuführen.

Einen Schluß auf den tatsächlichen Schaden lassen die Beobachtungen bei den Standraumversuchen zu. Es war dort ausgeführt worden, daß der Samenertrag der gesunden Mohnpflanzen mit der Erweiterung des Standraumes gesetzmäßig ansteigt, während befallene Pflanzen bei Überschreitung einer gewissen Standweite eine starke Ertragsdepression erkennen lassen, die durch den Pilzbefall hervorgerufen wird. Der Verlauf der Ertragskurven läßt so einen ziemlich sicheren Schluß auf die Größenordnung des Schadens zu. Bei einer Standweite von 22 Pflanzen je Quadratmeter (Standraum mittel) betrug der Samenertrag der einzelnen Pflanze bei uns 2,2 g. Bei Verringerung der Pflanzenzahl auf 12 je Quadratmeter kann nun nach Mader bei gesundem Mohn mit einer Ertragssteigerung von etwa 30% gerechnet werden. Dementsprechend hätten wir bei unseren Pflanzen eine Ernte von 3,1 erwarten dürfen; es wurden jedoch nur 1,8 g erhalten. Der durch den Pilz verursachte Ertragsrückgang wäre somit auf 1,3 g je Pflanze zu schätzen. Es darf angenommen werden, daß der Ausfall noch größer ist, da ja auch unsere Pflanzen bei mittlerem Standraum nicht unbeträchtlich erkrankt waren. Wir bewegen uns also mit dieser Schätzung an der unteren Grenze des Schadens.

Umgerechnet auf den Flächenertrag würde sich folgendes Bild ergeben: Bei weitem Standraum von 12 Pflanzen je Quadratmeter hätten wir unter Berücksichtigung des oben geschätzten Einzelpflanzenertrages von 3,1 g auf 40 qm einen Samenertrag von 1550 g erwarten dürfen, es wurden aber nur 900 g erhalten.

In der folgenden Tabelle 27 sind 1000-Korn-Gewicht und Ölgehalt verschiedener Samenproben des Anbaujahres 1946 wiedergegeben. Die Samenproben Nr. 2 und 3 wurden der Gesamternte des betreffenden Befallsgrades entnommen. Wie die Zusammenstellung zeigt, sinkt das 1000-Korn-Gewicht der Samen mit dem Befall der Kapseln ab, besonders stark bei den schon während ihrer Entwicklung schwer erkrankten Früchten.

Der Ölgehalt wurde nach Rupp und Wegner (vgl. Peyer 1934) bestimmt. Mit dieser einfachen Methode wird nur der Rohfettgehalt festgestellt; sie genügte jedoch für die hier beabsichtigten, vergleichenden Feststellungen. Aus den Untersuchungsbefunden geht hervor, daß der Ölgehalt der Samen in befallenen Kapseln sinkt. Er ist am geringsten in Körnern aus schon früh erkrankten Früchten. Bei den Proben aus der Gesamternte der Befallsgrade beträgt der Rückgang von O nach ++ etwa 10%. Bei der Beurteilung dieses Schadens ist zu berücksichtigen, daß die Samenernte aus Kapseln des Befallsgrades ++ sich in beiden Jahren um 5% des Gesamtertrages bewegte.

Tabelle 27
1000-Korn-Gewicht und Ölgehalt verschiedener Samenproben, Anbaujahr 1946

Untersuchungsmaterial	1000-Korn-Gewicht	Ölgehalt
1. Ausgesuchte, gesunde Samen	0,61	
2. Samen aus Kapseln des Befallsgrades O	0,57	43,7%
3. Samen aus Kapseln des Befallsgrades ++	0,55	40,5%
4. Samen aus sehr schwer erkrankten, d.h. schon während ihrer Jugendentwicklung befallenen Früchten	0,33	21,2%

Schließlich darf nicht unterschätzt werden, daß auch die Qualität bei Körnern aus befallenen Kapseln verringert ist, da Geruch, Geschmack und Farbe beeinträchtigt werden.

Die Darlegungen zeigen, daß der Ertragsrückgang durch *Helminthosporium* selbst in Jahren mit nur leidlich schwerem Befall, wie er 1947 vorlag, unter unzweckmäßigen Anbaubedingungen mehr als 40% des Samenertrages ausmachen kann, wozu dann noch eine Beeinträchtigung der Öl ausbeute kommt.

12. Hauptergebnisse

1. Die Konidienfruchtform von *Pleospora calvescens* (Fr.) Tulasne wird teils als *Dendryphium penicillatum* (Corda) Fries, teils als *Helminthosporium papaveris* Hennig oder *H. papaveri* Sawada bezeichnet. Von den beiden letztgenannten Namen ist der von Hennig geprägte der ältere. Eine eindeutige Entscheidung, ob es sich um ein *Dendryphium* oder um ein *Helminthosporium* handelt, läßt sich wegen der schwankenden Unterscheidungsmerkmale und der Schwierigkeiten bei der Abgrenzung der in Frage stehenden Gattungen nicht treffen, jedoch spricht vieles für *Helminthosporium*, so daß hier die Bezeichnung *Helminthosporium papaveris* Hennig beibehalten wird.

Der Pilz ist in seiner Infektionsbreite anscheinend auf *Papaver*-Arten beschränkt. Die zur gleichen Familie gehörenden *Eschscholtzia*-Arten wurden nicht befallen. Das gleiche gilt für die systematisch nahe stehenden *Cruciferen*. Die in der Literatur anzutreffenden Beobachtungen über Funde an anderen Pflanzen beziehen sich auf abgestorbene Pflanzenteile, die dem Pilz als Saprophyt einen geeigneten Nährboden bieten.

2. Die durch Sprossung entstehenden Konidien zeigen eine je nach Herkunft und Ernährungsbedingungen innerhalb gewisser Grenzen schwankende Septenzahl. Am häufigsten sind Konidien mit 3 Septen, besonders große mit mehr Querwänden treten an erkrankten Mohnkapseln auf. Die einzelnen Zellen der Konidien haben ein ungleiches Keimvermögen, wobei das der Polzellen besonders gut ist.

3. In Agarkulturen lassen sich Substrat-, Oberflächenhyphen und Luftmyzel unterscheiden. Das Luftmyzel wird in seiner Ausbildung von der Luftfeuchtigkeit beeinflußt.

Die Gestalt der Konidienträger wird weitgehend von Ernährungsverhältnissen bestimmt. An kranken Mohnsamen entwickeln sich die Träger als reichverzweigte Bäumchen, in Agarkulturen ist ihre Verzweigung geringer.

Neben normalen Hyphen treten Oidien und Chlamydosporen auf; auch Stromabildung läßt sich in der künstlichen Kultur beobachten.

4. Der Pilz liebt mäßige Wärme; sein Entwicklungsoptimum liegt bei 25°C.

5. Die Reaktion des Substrates beeinflußt die Myzelbildung in der Weise, daß optimale Myzelausbeuten um pH 5 erhalten werden. Die untere Grenze liegt bei pH 3, die obere über pH 10.

In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen konnte bei der Keimung infizierter Mohnsamen im sauren Keimbett eine höhere Anzahl erkrankter Keimlinge beobachtet werden als im alkalischen.

6. Gegen höhere Nährsalzkonzentrationen ist der Pilz empfindlich. Nitrate und Ammoniumsalze stellen bei 10 tägiger Kultur gleich gute Stickstoffquellen dar.

7. Alle als Kohlenstoffquellen gebotenen Zuckerarten konnten gut genutzt werden. Eine Rangfolge der Zucker nach ihrem Nährwert läßt sich nicht aufstellen, da die Verwendbarkeit weitgehend von der Höhe des Nährsalzzusatzes abhängt. Zellulose konnte unter den gegebenen Bedingungen nicht als C-Quelle verwertet werden, dagegen Mohnöl, wenn es in niedrigen Konzentrationen geboten wurde.

8. Die Feststellung und Beurteilung des Pilzbefalls in Feldversuchen stößt sowohl wegen der Vielgestaltigkeit des Krankheitsbildes als auch wegen des häufigen Fehlens äußerer Symptome auf Schwierigkeiten. Das sicherste und gleichzeitig wichtigste Kriterium stellt das Befallsbild der reifen Kapsel dar, jedoch bedarf es bei exakten Feststellungen der Kontrolle durch Keimbettprüfung der Samen, weil auch gesund aussehende Kapseln infiziert sein können.

9. In Feldversuchen des Jahres 1946 wird an den Randpflanzen der Parzellen ein wesentlich stärkerer Pilzbefall als bei den Pflanzen im Innern des Bestandes festgestellt. Dieser Befund wird in den Anbauversuchen des folgenden Jahres bestätigt.

10. Die Beobachtungen an den Randpflanzen lassen sich durch die veränderten Standortverhältnisse erklären. Die zur näheren Untersuchung 1947 feldmäßig durchgeführten Standraumversuche mit Strubes blauem Schließmohn zeigen, daß der Befall mit zunehmender Standweite gesetzmäßig ansteigt. Die gleichen Bedingungen, die der Pflanze eine üppigere und längere Vegetation ermöglichen, bringen eine schwerere Erkrankung der Kapseln mit sich.

Während bei gesundem Mohn mit zunehmender Standweite ein Anstieg des Samenertrages je Pflanze festzustellen ist, ist bei dem von uns angebauten, als Folge des bei weiten Pflanzenabständen verstärkten Befalls, ein deutliches Sinken des Ertrages zu beobachten.

Auf Grund dieser Beobachtungen empfiehlt es sich, in gefährdeten Lagen geringen Pflanzenabständen den Vorzug zu geben, die ein schnelleres Abreifen des Mohns gewährleisten.

11. Anbauversuche mit Bohnen als Unterfrucht ergeben einen stärkeren Befall des Mohns als zwischen Zuckerrüben. Auch hier treten die gleichen Zusammenhänge zwischen Ernährungsverhältnissen, Befall und Ertrag zutage.

12. Die Saatzeit beeinflußt die Stärke des Befalls in der Weise, daß späte Aussaat einen höheren Befallsgrad mit sich bringt.

13. Der Ertragsrückgang durch *Helminthosporium*-Befall kann bei weitem Abstand und mittelstarker Erkrankung — wie sie 1947 vorlag — 40% des Samenertrages erreichen. Bei engen Pflanzenabständen ist der Ausfall nach den Ergebnissen unserer Anbauversuche wesentlich geringer.

13. Literaturverzeichnis

- Barbacka, K. 1935. *Helminthosporium* on cultivated Poppy (*Helminthosporium papaveris* K. Sawada). Mem. Inst. polon. Econ. rur. XVI, 1. (Nach Ref. in review of applied mycology 1936, vol. XV, S. 743.)
- Berlese, A. N., 1888. Monographia dei generi *Pleospora*, *Clathrospora* e *Pyrenophora*, 25—29 Firenze. (Nach Christoff.)
- Boguslawski, E. v., 1941. Anbauverfahren mit neueren Ölpflanzen. Der Forschungsdienst 12, S. 161.
- Christoff, A., 1930. The *Pleospora* disease of cultivated poppy. Sofia, Government Printing Office.
- Frank, A. B., 1896. Die Krankheiten der Pflanzen. Breslau.
- Gassner, G. Phytopath. Ztschr. 1950. (In Vorbereitung.)
- Gäumann, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. Basel.
- Girzitska, Mne. Z. K.. 1928. Conidial stage of *Pleospora papaveracea* sacc. Proc. Pan-Soviet Congress of Botanists in Leningrad in January 1928, 172—173. (Nach Ref. in review of applied mycology 1930, vol. IX, S. 488.)
- Greis, H., 1943. Bau, Entwicklung und Lebensweise der Pilze. (In Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien Bd. 5 a, I.)
- Heller, 1917. Untersuchungen über Zelluloseabbau durch Pilze. Diss. Rostock.
- Hennig, P., 1907. Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten 17, S. 280—286.
- Hochappel, H., 1925. Untersuchungen über die C- und N-Quellen einiger Fusarien. Zentralblatt f. Bacteriologie und Parasitenkunde 64.
- Kern, W., 1937. Angewandte Pharmazie, S. 261. Berlin.
- Kirchner, O., 1891. Braunfleckigkeit der Gerstenblätter. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten 1, S. 24.
- 1923. Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Stuttgart.

- Klebahm, H., 1905. Untersuchungen über einige *Fungi imperfecti* und die zugehörigen Ascomycetenformen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik **41**, S. 505.
- Küster, 1925. Pathologische Pflanzenanatomie, Jena.
- Lindau, G., 1910. *Fungi imperfecti* in Rabenhorsts Kryptogamenflora.
— 1922. Kryptogamenflora für Anfänger. Berlin. **2.** Bd., 2. Abt.
- Lohwag, H., 1941. Anatomie der Asco- und Basidiomyceten. (Im Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. **VI**.) Berlin, Linsbauer.
- Mader, W., 1928. Standraumversuch bei Mohn. Fortschritte der Landwirtschaft, S. 539—541.
- Migula, W., 1934. *Fungi imperfecti*, Kryptogamenflora. (In Thomé's Flora von Deutschland Bd. **11**, 2. Teil).
- Nannfeldt, I. A., 1932. Studien über die Morphologie und Systematik der nicht lichenisierten inoperculaten Discomyceten. Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upsaliens.
- Neergaard, 1938. Aarsberetning fra I. E. Ohlsens Plantepatologiske Laboratorium 1. April 1936 bis 31. Marts 1937. (Nach Ref. in review of applied mycology 1938, vol. **XVII**, S. 96.)
- Noack, F., 1905. *Helminthosporium gramineum* Rabenh. und *Pleospora trichostoma* Wint. Ztschr. für Pflanzenkrankheiten **15**, S. 193.
- Pape, H., 1919. Die wichtigsten pflanzlichen Schädlinge unserer Ölgewächse. Deutsche Landw. Presse **46**, S. 467—469.
— 1939. Die Praxis der Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen der Zierpflanzen, S. 355. Berlin.
- Peyer, W., 1934. Analytische Praxis, S. 154. Stuttgart.
- Pieper, H., 1940. Vergleichende Untersuchungen an Varietäten des Kulturmohns. Landwirtschaftliche Jahrbücher **89**, S. 333.
- Poeteren, van N., 1927. Verslag over de werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1927. Versl. en Meded. Plantenziektenkundigen Dienst te Wageningen **55**, 1929. (Nach Ref. in review of applied mycology 1929, vol. **VIII**, S. 546.)
— 1932. Ebenda, **72**, 1933. (Nach Ref. in review of applied mycology, vol. **XII**, S. 10.)
- Prochaska, M., 1927. Die Kapselform des Mohnes und deren Bedeutung für die Saatgutauswahl. Fortschritte der Landwirtschaft **2**, S. 160—162.
— 1929. Beschreibung und Untersuchung einiger in Österreich und in den Nachbarländern vorkommender Mohnsorten. Die Gartenbauwissenschaft **1**, S. 286.
— 1930. Beitrag zur Kapsel- und Samenbildung der Papaveraceen mit Berücksichtigung der Gartenmöhne. Die Gartenbauwissenschaft **3**, S. 277.
— 1933. Einfluß der Erntezeit des Mohnes auf den Konsumwert und die Keimfähigkeit der Samen. Die Gartenbauwissenschaft **7**, S. 458.
- Rathschlag, H., 1932. Studien über *Helminthosporium arenae*. Ref. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten **42**, S. 165.
- Ravn, F., Kölpin, 1901. Über einige *Helminthosporium*-Arten und die von denselben hervorgerufenen Krankheiten bei Gerste und Hafer. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten **11**, S. 1.
- Reinmuth, E., 1942. Die parasitäre Blattdürre, eine für den Mohnbau bemerkenswerte Krankheit. Angewandte Botanik **XXIV**, S. 273.
— 1943. Weitere Beobachtungen über die parasitäre Blattdürre des Ölmohn. Angewandte Botanik **XXV**, S. 300, 1943.
- Sawada, K., 1918. Taiwan ni okeru Keshi Byōgai Chōsa (Bull. Nr. **128**, Agric. Exp. Stat., gov'on Formosa) S. 20—22. T. **7**, VI. June 1918. (Nach Christoff 1930.)
- Sessous, G. und Scheffl, H., 1940. Besonderheiten und Ausdehnungsmöglichkeiten des Mohnanbaues. Der Forschungsdienst **9**, S. 405.
- Spennemann, 1936. Ergebnisse der Mohnsortenversuche. Mitteilungen für die Landwirtschaft **51**, S. 101.
- Stelzner, G., 1934. Experimentelle Untersuchungen über den die Gerstenstreifenkrankheiten hervorrufenden Pilz *Helm. gram.* Rbh. Botanisches Archiv **36**, S. 301.
- Vogt, E., 1923. Ein Beitrag zur Kenntnis von *Helminthosporium gramineum* Rbh. Arbeiten aus der Biol. Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft **11**, S. 193.
- Wahrlich, W., 1893. Zur Anatomie der Zellen bei Pilzen und Fadenalgen. Scripta botanica horti universitatis imperialis, Petropolitanea **4**.
- Wollenweber, H. W., 1932. *Fungi imperfecti*. (In Soraauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten **3**. Bd., 2. Teil)

Aus dem Forstbotanischen Institut und der Versuchsabteilung für Forstschatz gegen pflanzliche Schädlinge in Tharandt bei Dresden

Über den *Cytospora*-Krebs der Pappel (*Valsa sordida* Nitschke) und die Bedingungen für eine parasitäre Ausbreitung

Von

W. R. Müller-Stoll und Ursula Hartmann

Mit 16 Textabbildungen

1. Einleitung

Valsa sordida Nitschke ist ein Pilz, der sowohl in seiner Ascusform als auch in seiner als *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fries bezeichneten Konidienform schon weit über hundert Jahre lang der Wissenschaft bekannt ist. Es handelt sich offenbar um einen über alle Erdteile verbreiteten, fast überall häufigen Organismus, der im allgemeinen als harmloser Saprophyt auftritt. Dennoch mehren sich seit einigen Jahrzehnten die Beobachtungen, daß er unter gewissen Voraussetzungen eine nicht ungefährliche parasitäre Aktivität zu entfalten vermag.

Eine recht bedeutende Rolle als Krankheitserreger spielt *Valsa sordida* in den Vereinigten Staaten von Amerika, wo zuerst von Long (1918) aus den semiariden Gebieten des Südwestens ausgedehnte Schäden an Pappeln und Weiden durch *Cytospora chrysosperma* beschrieben wurden. Daran anknüpfend folgten rasch nacheinander weitere Mitteilungen über das Auftreten des Pilzes als Pappelschädling in anderen Teilen von Nordamerika (Hubert 1920, Povah 1921, Moss 1922). In Amerika trägt die Krankheit den Namen *Cytospora*-Krebs der Pappel (*Cytospora* canker disease of poplar) und hat gebietsweise offenbar große Bedeutung erlangt. In neuerer Zeit wurden deshalb von Schreiner (1931, 1931a) dem Pilz eingehende Studien gewidmet. In dem ausgezeichneten forstpathologischen Leitfaden von Boyce (1938) wird der *Cytospora*-Krebs seiner Bedeutung in den Vereinigten Staaten entsprechend in ziemlicher Ausführlichkeit behandelt.

Auch aus anderen Erdteilen liegen Mitteilungen über das Auftreten der *Valsa sordida* als Pappelschädling vor, und zwar aus Japan von Togashi (1924) sowie aus Südafrika von Evans (zit. bei Schreiner 1931, S. 4).

Die ältesten Angaben über parasitäres Auftreten des Pilzes stammen jedoch aus Europa, was den amerikanischen Autoren bisher entgangen ist. Als erster hat Münch (1909, S. 152) mit Nachdruck ausgesprochen, daß *Valsa sordida* nicht nur sekundär als Saprophyt auf abgestorbenen Ästen und Zweigen lebt, sondern entgegen einer auch heute zum Teil noch vertretenen

Auffassung¹⁾ auch zu parasitärem Befall befähigt ist und an manchen Standorten junge Pappelstämmchen fast regelmäßig zum Absterben bringen kann. Münch stützt seine Angaben auf eingehende Beobachtungen im Forstbotanischen Versuchsgarten Grafrath bei München und stellt fest, daß an dem primären Parasitismus des Pilzes nicht zu zweifeln sei. Damit ist Münch der eigentliche Entdecker der parasitären Natur von *Valsa sordida* und nicht Long (1918), der zwar unabhängig davon, aber doch sehr viel später zu demselben Ergebnis gelangt ist. Weitere Angaben über Beschädigungen von Pappeln durch den Pilz aus europäischen Ländern beziehen sich auf England und stammen von Grove (1923) und Day (1924).

Im ganzen wurde das parasitäre Auftreten der *Valsa sordida* an Pappeln in Europa, soweit hier die Krankheit überhaupt bekannt war, kaum als gefährlich angesehen. Unsere phytopathologische Literatur weiß darüber im Gegensatz zu Amerika fast nichts zu berichten. Um so überraschender war es, als 1946 in einem staatlichen Pappelzuchtgarten bei Dresden ein epidemisches Umsichgreifen einer Krankheit an den Pappelmutterstöcken festgestellt wurde, die auf einen Befall durch *Valsa sordida* zurückzuführen war. Der erhebliche Umfang der eingetretenen Schäden veranlaßte eine nähere Untersuchung; über die dabei erzielten Ergebnisse wird im folgenden berichtet. Nach Isolierung des Erregers wurden unter anderem Kulturversuche auf verschiedenen Substraten und Infektionsversuche an lebendem Material durchgeführt. Aus Freilandbeobachtungen ergab sich, daß dem Pilz auch bei uns eine wesentlich größere Bedeutung als Forstsäädling zukommt, als man bisher angenommen hat. Diese Feststellung erlangt ein besonderes Gewicht dadurch, daß in neuerer Zeit der Pappelkultur ein wachsendes waldbauliches Interesse entgegengebracht wird.

Für Unterstützung bei unseren Untersuchungen haben wir in erster Linie dem Leiter des Pappelgartens Graupa bei Dresden, Herrn Forstmeister H. Günther, zu danken, der uns bereitwillig Material von den befallenen Pappelpflanzen und eine mit Sorgfalt hergestellte Planskizze über Umfang und Verteilung der eingetretenen Schäden überlassen hat. Die ersten Versuche zur Isolierung des Erregers aus verschiedenem Material hat im Jahre 1946 unser damaliger Mitarbeiter, Herr Forstmeister Dr. W. Langner, jetzt in Schmalenbek bei Hamburg, durchgeführt; bei seinem Weggang hat er uns in dankenswerter Weise seine Kulturen und Versuchsprotokolle zur Verfügung gestellt.

2. Das Krankheitsbild des *Cytospora*-Pappelkrebses

a) Befall von Pappelmutterstöcken

Ein *Valsa*-Befall an Pappelmutterstöcken, wie sie in sog. Pappelgärten zur Massenerzeugung von Stecklingsmaterial gezogen werden, ist bisher noch nicht beobachtet worden. Das dabei auftretende Krankheitsbild weicht durch die besondere Erziehungsaart der Pflanzen in gewisser Hinsicht von den an Ästen und Stämmen normal gewachsener Bäume zu beobachtenden Erscheinungen ab und soll daher getrennt behandelt werden. Daß derselbe

¹⁾ Liese schreibt im Fragekasten der Mitt. dtsch. dendrolog. Ges. 78, 278, 1936, über ein von *Cytospora chrysosperma* befallenes Pappelstämmchen: „Inwieweit dieser Pilz parasitär ist, bedarf noch der Nachprüfung. Wahrscheinlich handelt es sich um einen sekundären saprophytischen Befall.“

Krankheitserreger die Ursache bildet, konnte durch Isolierungsversuche belegt werden (S. 452).

Der von der Sächsischen Landesforstverwaltung im Jahre 1942 angelegte Pappelgarten in Graupa unweit Dresden ist seitdem ununterbrochen zur Stecklingsnachzucht benutzt worden, ohne daß irgendwelche Schwierigkeiten durch Krankheiten oder Schädlinge aufgetreten sind. Zum Zwecke der Steckholzgewinnung wurden die ursprünglich ebenfalls aus Stecklingen angezogenen Mutterpflanzen alljährlich vollständig zurückgeschnitten (auf den Stock gesetzt) und die dabei anfallenden Ruten als Material zur Anlage von Pappelkulturen an die Forstämter abgegeben. Anfänglich sind nie Störungen beim Wiederausschlagen der

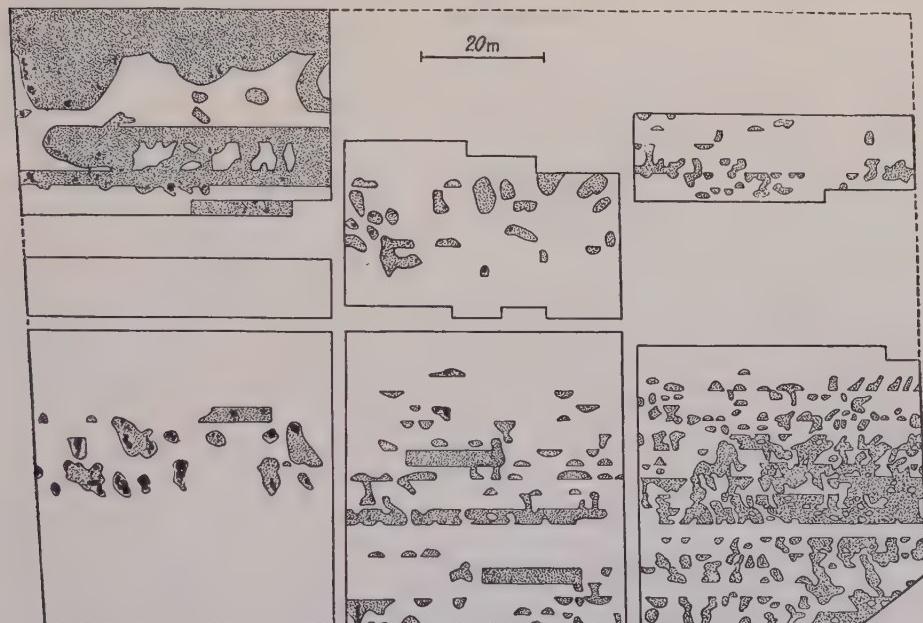


Abb. 1

Planskizze des Pappelgartens Graupa bei Pirna (Sachsen); schwarz umrandet: die bis 1946 bepflanzten Quartiere; punktiert: die durch *Valsa sordida* vernichteten Teile. Der zum Teil streifenweise Wechsel geschädigter und nicht geschädigter Teile ist durch das beetweise Anpflanzen resistenter und anfälliger Pappelarten bedingt

Mutterstöcke und beim Wachstum der Schößlinge beobachtet worden, bis im Frühjahr 1946 erstmalig ein bedeutender Teil der Pappelpflanzen einfach weggeblieben ist und keinerlei Austrieb mehr hervorbrachte. Die vorjährigen Schößlinge waren rechtzeitig im Nachwinter geschnitten worden, so daß ein Erstickungstod durch Saftstauung ausgeschlossen war.

Bei einer Besichtigung des Pappelgartens Graupa durch den ersten Verfasser Ende Juli 1946 ergab sich, daß, soweit nicht überhaupt ganze Quartiere abgestorben waren, die Ausfallscheinungen deutlich fleckenweise auftraten, indem die toten Stöcke in unregelmäßig begrenzten Nestern verschiedener Größe zwischen den gesunden normal ausgetriebenen Pflanzen verteilt waren. In Abb. 1 wird versucht, diese Erscheinung zu veranschaulichen. Damit war bereits ein Hinweis gegeben, daß es sich wahrscheinlich um eine parasitäre Krankheit handelte, die, von primären Infektionsstellen ausgehend, sich fleckenweise ausgebreitet hat. Dieser Verdacht wurde

bei der näheren Untersuchung der am Rande der Fehlstellen stehenden Pappelpflanzen volllauf bestätigt. Hier fanden sich zahlreiche Stöcke, die unregelmäßig ausgetrieben hatten und partielle Absterbeerscheinungen am Stamm zeigten. Häufig waren die Stöcke auf einer Seite völlig tot und trugen auf der entgegengesetzten, nicht befallenen Flanke noch wenige spärliche Triebe (Abb. 2).

Zur genaueren Untersuchung wurden solche geschädigten Pflanzen ausgegraben, da die Stämme der Pappelmutterstöcke nur etwa handbreit aus dem Boden ragten. Sie zeigten auffällige dunkle Verfärbungen der Rinde an den unterirdischen Teilen und regelmäßig auch am oberirdischen Kopfabschnitt. An manchen Stöcken erstreckten sich die verfärbten Stellen bis in eine Tiefe von 20 cm unter der Bodenoberfläche (Abb. 3). Sie hatten sehr verschiedene Ausdehnungen; zum Teil waren nur wenige Stellen geschädigt und der Befall in einzelne, voneinander getrennte Flecken aufgelöst, während in anderen Fällen der geschädigte Teil einen einzigen, mehr oder weniger ausgedehnten Abschnitt der Stammoberfläche bedeckte. Je ausgedehnter die Schadstellen waren, um so schwächer war die Entwicklung neuer Triebe an den betreffenden Pflanzen. Sehr deutlich war zu erkennen, daß der Befall stets von dem oberirdischen Kopfteil seinen Ausgang nahm und sich von da auf die im Boden liegenden Teile der Stammrinde fortsetzte.

An den geschädigten Stellen war die Rinde faul und ließ sich leicht in Fetzen ablösen. Die Kambiumschicht war völlig zerstört und das darunterliegende Holz dunkelviolettblau bis schwarz verfärbt. Nach Entfernung der ganzen Stöcke erschienen die befallenen Stellen sehr scharf abgegrenzt gegen die noch gesunden weißen Teile des Holzes (Abb. 4). Bei den völlig abgestorbenen Pflanzen war das Bild dasselbe, nur, daß die Fäule wenigstens den gesamten Kopfteil der Pflanze ergriffen hatte und sich von da mehr oder minder weit auf die unterirdischen Stammabschnitte fortsetzte, so daß kein gesund gebliebener Rindenteil noch Triebe hervorbringen konnte.



Abb. 2

Kopfabschnitte von Pappelmuttersäcken mit krebsartigen Rindenekrosen infolge Befall durch *Valsa sordida*. Auf einer Seite der Stöcke (im Bild rechts) haben sich noch einige gesunde Triebe gebildet. Die linke Pflanze hat einen Wasserschoß unterhalb der Befallsstelle hervorgebracht. Juli 1946

Beim Durchsägen der Stöcke zeigten sich

an Blaufäule erinnernde Verfärbungen im Holzkörper, die sich mehr oder weniger weit in das Holz hinein erstreckten und zum Teil bis zum Mark vorgedrungen waren (Abb. 5). An nur teilweise abgestorbenen Stöcken hatten sich bis zum Juli um die befallenen Stellen deutliche Überwallungswülste gebildet, die von verschiedener Größe und Form waren, je nachdem wieweit der Befall fortgeschritten war; im Zentrum war das Gewebe stets etwas eingesunken. Dadurch erhielten die Nekroseerscheinungen, besonders an den Kopfteilen der Pappelstöcke, das Aussehen eines typischen Rindenkrebses. In einigen Fällen konnte beobachtet werden, daß nur noch Holzteile des jüngsten, 1946 gebildeten Jahrtringes am Leben waren und sich nach innen scharf gegen die abgestorbenen verfärbten Partien abgrenzten. Dieses lebende Holz lag zum Teil wie ein zweiter, im Querschnitt oft nur linsengroßer Holzstrang dem toten Stumpf seitlich an, reichte jedoch offensichtlich zur Versorgung der wenigen Laubtriebe aus. Aus diesem Schadbild ergeben sich gewisse Schlußfolgerungen für die Art der Ausbreitung des Befalls, der, von der primären Infektionsstelle ausgehend, offenbar im Holzkörper rascher fortschreiten kann als in der Rinde und dann von innen her auch die gesunde Rinde zu erfassen vermag. Auf jeden Fall konnte es vorkommen, daß gewisse Rindenteile und das Kambium gesund blieben, während der Holzkörper darunter abgestorben ist.

Leider war es nicht möglich, das Schicksal der nur teilweise geschädigten Stöcke, die trotz des Befalls noch Schößlinge entwickelt hatten, weiter zu verfolgen. Da zur wirksamen Bekämpfung der Krankheit die vollständige Vernichtung alles irgendwie erkrankten Materials, das keine völlig normale Triebentwicklung zeigte, nicht zu umgehen war, kann nicht gesagt werden, ob wenigstens kleinere Krebsstellen im Laufe der Zeit wieder ausgeheilt wären oder — was wahrscheinlicher ist — auch ein schwächerer Befall die Stöcke früher oder später zum Absterben gebracht hätte.

b) Befall an Zweigen und Stämmen

In einigen Quartieren des Graupaer Pappelgartens standen junge Heister von *Populus deltoides*, bei denen sich ebenfalls in fleckenweiser Verteilung



Abb. 3

Durch *Valsa sordida* geschädigte Stöcke aus dem Pappelgarten Graupa; Rindennekrose bis 20 cm unter die Bodenoberfläche reichend. Hauptbefall am Kopfteil. Juli 1946



Abb. 4

Kopfabschnitte beschädigter Pappelstücke nach Ablösen der Rinde. An den durch den Pilz abgetöteten Stellen ist der Holzkörper oberflächlich dunkel verfärbt mit scharfer Abgrenzung gegen das gesunde Gewebe. Juli 1946

zeigte dasselbe Bild wie bei saprophytischem Wachstum des Pilzes, wenn er etwa einen durch den Pappelbock zum Absterben gebrachten Ast sekundär befällt. Im vorliegenden Falle stand jedoch der primäre Parasitismus des *Valsa*-Pilzes außer Frage, da keinerlei andere Schadensursachen zu erkennen waren und die Befallsherde im Gelände genau so verteilt waren, wie bei den geschädigten Mutterstöcken.

An den kräftigeren Pflanzen waren bei genauerer Durchsicht an den Stämmchen und stärkeren Zweigen krebsartige Beschädigungen zu finden, wo die Rinde in Längsrissen aufgeplatzt und teilweise zerfasert



Abb. 5

Kopfteile von Pappelstücken mit Befall durch *Valsa sordida* im Querschnitt; verschiedene starke Verfärbung des Holzkörpers. Rechts: älteres Holz ganz abgestorben, nur an einer Stelle ein kleiner Holzstrang aus dem laufenden Jahrgang. Mitte und links: Überwallungswülste am Rande der Befallsstellen; das gesunde Holz erscheint jeweils weiß. Juli 1946

Absterbeerscheinungen fanden; die Bäumchen waren häufig bis auf die Wurzeln abgetötet. Die eingetrocknete Rinde war über weite Strecken mit schwärzlichen Pusteln bedeckt (Abb. 6), die zu einem flach-kugelförmigen, valsentartigen Stroma gehörten; es handelte sich um Pyknidienfruchtkörper, die bei Feuchtbehaltung der Zweigteile im Laboratorium lange gelbe Sporenranken hervorbrachten (Abb. 7). Danach konnte der Pilz als *Valsa sordida* bestimmt werden. Häufig sind die befallenen Pflanzen abgestorben, ohne daß es zu irgendeiner Gegenwirkung seitens des Wirtsorganismus gekommen ist. Die flächenhafte Ausbreitung des Befalls, kenntlich an der ziemlich gleichmäßigen Verteilung der Stromapusteln,

war (Abb. 8). Es handelte sich meist um lang-ovale, gegen das gesunde Gewebe deutlich abgegrenzte Stellen, an denen die Rinde abgetötet und mehr oder weniger eingesenkt war; teilweise, besonders an den größeren Krebsstellen, fanden sich hier auch Pyknidien-pusteln. Kallöse

Wucherungen des Splintholzes verursachten in manchen Fällen Deformationen um die erkrankten Stellen und ließen erkennen, daß die Wirtspflanze bestrebt war, den Befall abzudämmen. An dünnen Zweigen — und dies gilt auch für infizierte Stecklings-

pflanzen — fehlen meist krebsartige Erscheinungen an der Rinde, da der Befall hier in der Regel so rasch fortschreitet, daß keine Gegenreaktion des

Wirtsgewebes möglich ist. Es kommt aber offenbar vor, daß sich der Erreger zunächst nur an einer Seite eines Triebes in einem schmalen Streifen ausbreitet; dann versucht die Pflanze von der Seite her die Beschädigung zu überwallen, wodurch es zu Bildungen kommt, wie sie Abb. 9 wiedergibt. Solche schwachen Zweige sind aber, einmal infiziert, auf jeden Fall verloren.

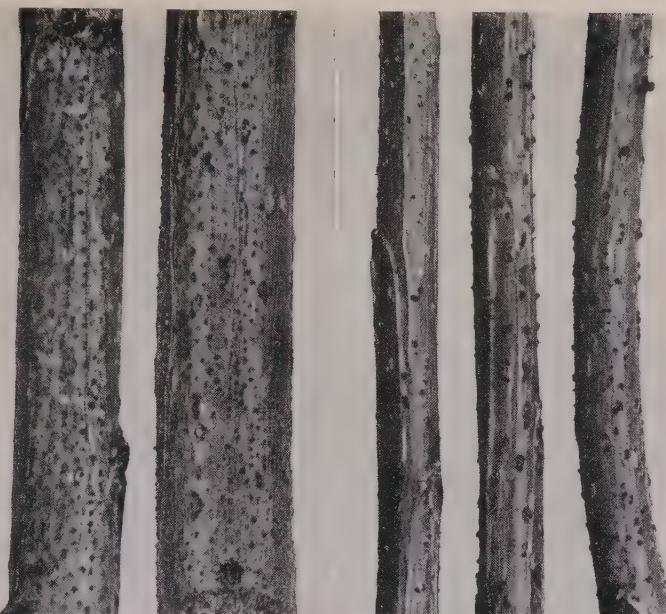


Abb. 6
Stammabschnitte und Zweige von *Populus deltoides*-Heistern mit starkem Befall durch *Valsa sordida*. Die tote Rinde mit Pyknidienstromata dicht besetzt

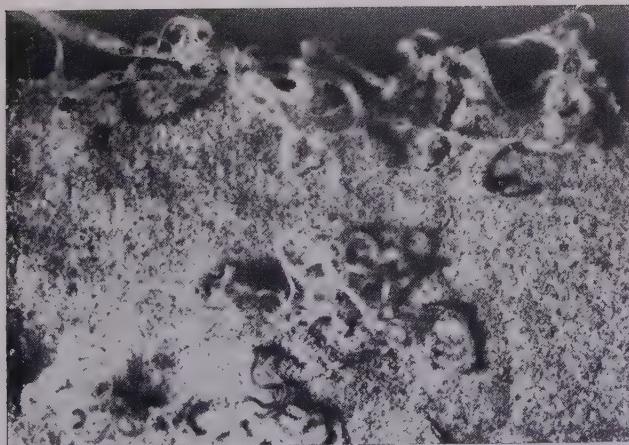


Abb. 7
Pappelrinde mit frisch ausgetretenen Konidienranken von *Valsa sordida*. Die Stromapusteln sind in diesem Stadium meist noch nicht sichtbar. Vergr. 7,5 mal



Abb. 8

Durch *V. sordida* verursachte Krebsstellen an jungen Pappelstämmchen. Das getötete Rindengewebe eingesunken und in Längsrissen aufgeplatzt, am rechten Stück Deformation durch Überwallungswulst

starkrindige Stämme, bei denen der abgetötete Rinde kaum festzustellen ist; die Pyknidienfrüchte liegen hier tief in den Borkenrissen und sind schwer zu erkennen.

Bei den einzelnen Pappelarten ist das Krankheitsbild teilweise etwas verschieden. Long (1918) beobachtete beispielsweise bei *Populus tremuloides* in den Bergen von Arizona und New Mexiko ausgeprägte Stammkrebs mit konzentrisch verlaufenden Wülsten auf dem Splintholz, die vom Pilz immer wieder durchwachsen werden, aber ohne Fruchtkörperbildung bleiben. Bei *P. alba* entwickelt sich dagegen nach Boyce (1938, S. 277) überhaupt kein typischer Krebs, vielmehr soll hier die Pflanze einfach absterben, ohne daß es irgendwie zur Markierung einer Stillstandsphase in der Ausbreitung der Krankheit kommt.

Wenn der Pilz, wie es häufig geschieht, vom Zweigwerk aus gegen den Stamm vorrückt, so wird er an der Einmündung in einen stärkeren Ast oder in den Stamm durch die Gegenwirkung der Wirtspflanze häufig aufgehalten und bildet einen krebsigen Befallsherd, der schließlich erweitert wird, bis er das Organ ringförmig umgreift. Infolge dieser „Ringelung“ sterben die darüberliegenden Kronenteile ab. Der Prozeß verläuft naturgemäß um so rascher, je schwächer der Ast bzw. Stamm ist. Junge Bäumchen können auf diese Weise in einer einzigen Saison eingehen, wenn der Stamm infiziert wurde (vgl. Versuchsergebnisse S. 464); bei Stämmen von 10—20 cm Durchmesser dauert es meist 2—3 Jahre, bis bei starkem Befall ein Stammkrebs

Krebsartige Befallsherde durch *Valsa sordida*, die den von uns beobachteten Erscheinungen entsprechen, wurden auch durch die amerikanischen Autoren beschrieben: Die frischen Befallsstellen vor dem Eintrocknen der Rinde sind an weichrindigen jüngeren Stammteilen und Ästen leicht eingesunken und bräunlich verfärbt, mitunter an Sonnenbrand erinnernd, und von ähnlicher Art wie bei den Graupaer Mutterstöcken (Abb. 3). Teilweise sind die Krebsstellen im Umriß regelmäßig langoval, da der Pilz sich in der Längsrichtung der Achsenorgane offenbar rascher ausbreiten kann als in der Quere, teils unregelmäßig gestaltet und auch in der Größe sehr verschieden; große Befallsherde an Stämmen können einen Durchmesser von mehreren Dezimetern erreichen. Auf dem Holzkörper zeigen sich nach Ablösen der Rinde dieselben dunkelverfärbten nekrotischen Stellen, wie sie auf Abb. 4 wiedergegeben sind; die innere Rinde und die Kambiumschicht sind geschwärzt und riechen faulig.

Je nach der Beschaffenheit der Borke können allerdings die Befallsstellen äußerlich nur undeutlich in Erscheinung treten und werden erst beim Eintrocknen durch das rissige Aufplatzen der toten Rindenpartien sichtbar. Im besonderen gilt dies für ältere Umfang des Schadens vor dem Aufreißen der abgetöteten Rinde kaum festzustellen ist; die Pyknidienfrüchte liegen hier tief in den Borkenrissen und sind schwer zu erkennen.

durch ringförmige Ausweitung zum Tode führt (Boyce 1938, S. 277). Unterhalb der Befallsstellen werden oft reichlich Adventivsprosse hervorgebracht (Münch 1909, S. 152); bei weiterem Vorrücken des Pilzes werden sie später meist abgetötet. Eine Begleiterscheinung dieser Ringelung von Ästen oder Stämmen ist das Abwelken des Laubwerkes an den betroffenen Teilen, soweit der Vorgang sich während der Vegetationszeit auswirkt. Meist vollzieht sich jedoch in Übereinstimmung mit den Befunden im Pappelgarten Graupa die Tötung der Pflanzen während der Winterzeit, was in der Regel erst im folgenden Frühjahr erkannt wird, wenn sie nicht mehr austreiben.

Es wäre nicht richtig, die *Valsa sordida* nur als Rindenpilz zu betrachten, denn das Myzel durchwuchert in großem Umfange auch den Splint und dringt unter Umständen weit in das Kernholz ein. Kräftigen älteren Bäumen gelingt es mitunter, einen Befall am Stamm wieder zum Stillstand zu bringen und die Krebswunden, sofern sie nicht zu ausgedehnt sind, durch Überwallung zu schließen; in manchen Fällen bleibt allerdings eine offene Stelle. Im Holzkörper sind dann in der Regel ausgedehnte braune Verfärbungen vorhanden, die sich vor allem in der Längsrichtung der Stämme erstrecken; hier kann das Myzel offenbar noch lange am Leben bleiben, wenn der Befall äußerlich schon weitgehend ausgeheilt ist (Schreiner 1931, S. 23). Auch bei den befallenen Stöcken im Pappelgarten Graupa war ja der Holzkörper in sehr bedeutendem Umfang angegriffen.

Im Laufe unserer Untersuchungen machten wir die Feststellung, daß *Valsa sordida* im Tharandter Gebiet in ziemlichem Ausmaß auch an der einheimischen Aspe (*Populus tremula*) schädlich wird. Forstmeister Dr. H. Schönbach lenkte unsere Aufmerksamkeit auf völlig abgestorbene oder stark erkrankte Aspen vorwiegend jüngeren Alters, die mitten im Wald an den natürlichen Standorten des Baumes vorkommen. Die nähere Prüfung ergab, daß es sich um parasitären Befall durch den *Valsa*-Pilz handelte; häufig waren die Bäume ohne jede Begleiterscheinung abgestorben, teilweise fanden sich Krebsstellen, die je nach Alter der befallenen Teile ein verschiedenes Aussehen hatten. Nach dem trockenen Sommer des Jahres 1947 schien die Krankheit an den Aspen stärker um sich zu greifen.

3. Der Erreger des *Cytospora*-Krebses der Pappel

a) Isolierung des Pilzes

An den abgestorbenen oder mehr oder weniger geschädigten Pappelmutterstöcken aus dem Graupauer Pappelgarten waren äußerlich keine Hinweise auf einen bestimmten, als Schadensursache



Abb. 9

Junge Pappelzweige von *V. sordida* befallen und abgetötet mit längsverlaufenden Rindenwunden, die die Pflanze zu schließen versucht hatte

in Betracht kommenden Organismus etwa in Gestalt von Fruchtkörpern zu finden. Aus der Art der Schädigung von Rinde und Holz ergab sich zwar der Verdacht, daß es sich um denselben Erreger handelte wie bei den am gleichen Ort und zur gleichen Zeit aufgefundenen, durch *Cytospora chrysosperma* abgetöteten Pappelheistern, doch mußte durch Isolierung des Pilzes erst der Beweis dafür erbracht werden.

Von Zweigstücken der befallenen Heister und von später erhaltenem Material anderer Herkunft ließ sich aus Pyknosporen, die aus den charakteristischen Rindenpusteln in großen Mengen ausgepreßt werden, der Pilz leicht züchten. Früher hatten bereits Brefeld (1891, S. 42) und danach auch Münch (1909), Long (1918) und Schreiner (1931) *Valsa sordida* auf den üblichen Nährböden in Kultur gehabt. Einsporkulturen zu gewinnen, ist z. B. mit Hilfe der Lindner'schen Tröpfchenmethode trotz der Kleinheit der Zellen ohne weiteres möglich; man muß nur warten, bis die Konidien ausgekeimt sind und in den Tröpfchen ein kleines Myzelium gebildet haben, um sicher erkennen zu können, daß man es mit einer einzigen Ausgangszelle zu tun hat. In künstlicher Kultur zeigt der Pilz so charakteristische Eigenschaften und bringt vor allem wiederum Pyknidien, die gelbe Konidienmassen erzeugen, hervor, daß die Bestimmung leicht fällt.

Es war nun die Frage, ob aus den geschädigten Pappelmutterstöcken derselbe Pilz isoliert werden kann. Bei der Suche nach dem Krankheitserreger haben wir uns nicht nur auf eine Prüfung der erkrankten Rinde beschränkt, sondern haben von vornherein auch den Holzkörper mit berücksichtigt. In der faulen und oft schon weitgehend zersetzen Rinde war naturgemäß eine große Zahl verschiedener Organismen vorhanden, die sich in der Regel erst sekundär als Saprophyten angesiedelt hatten und größtenteils verbreitete Bodenpilze darstellten. In die tieferen Schichten des Holzes konnten diese Organismen dagegen weniger leicht eindringen, so daß hier eher die Aussicht bestand, den eigentlichen Erreger in Reinkultur zu erhalten. Bei Abimpfungen aus der Rinde konnte dieser leicht durch die ihn begleitenden, gewöhnlichen Fäulnispilze überwuchert werden. Als Nährboden wurde gewöhnlicher Malzextraktagar verwendet. Neben zahlreichen saprophytischen Organismen, wie *Penicillium*-Arten, verschiedenen Mucorineen, besonders *Absidia* spec., ferner *Cladosporium herbarum*, *Trichoderma lignorum*, hefeartigen Pilzen und einigen unbestimmbaren sterilen Myzelien lieferten die verschiedensten Abimpfungen aus Rinde und Holz immer wieder einen Organismus, der sich bei weiterer Kultur als zu *Valsa sordida* gehörig zu erkennen gab. Seine Isolierung gelang sowohl aus der durch Fäulnis stark zerstörten und der angrenzenden, noch gesund aussehenden Rinde, als auch aus dem Inneren des verfärbten Holzkörpers und — was besonders wichtig ist — ebenso aus äußerlich noch gesund aussehendem Holzgewebe neben den Befallsstellen. Solches unverfärbtes Holz lieferte den Erreger fast stets in Reinkultur ohne die saprophytischen Begleitpilze. In dem Maße wie die Zersetzung fortgeschritten war, traten diese in mehr oder weniger großer Menge auf; besonders reichlich fanden sie sich im stark zerstörten Rindengewebe. Auch diese Feststellungen weisen darauf hin, daß der *Valsa*-Pilz der primär schädigende Organismus ist.

b) Verhalten des Pilzes in Kultur

Die Pyknosporen (Konidien) von *Valsa sordida* sind klein¹⁾, einzellig, hyalin und schwach gekrümmmt (Abb. 10); sie gleichen kurzen, etwas gebogenen Stäbchen mit gerundeten Ecken. Winter (1887) bezeichnet sie treffend als „würstchenförmig“. Auf einem Nährboden bilden sich innerhalb 1—2 Tagen Keimschlüche und kleine Myzelien, wobei die Konidien ihre ursprüngliche Form verlieren und bedeutend größer werden. In Übereinstimmung mit Schreiner (1931, S. 12) nehmen sie dabei in der Breite bedeutend mehr zu als in der Länge, so daß sie schließlich eine breitelliptische, zum Teil sogar kugelige Gestalt annehmen. 24 Stunden nach der Aussaat hat sich ihre Länge etwa verdoppelt, während sie in der Breite ungefähr das 5 fache des ursprünglichen Wertes erreichen. Im weiteren Verlauf setzt sich die Größenzunahme fort, so daß die Zellen im Mittel etwa $3\frac{1}{2}$ —4 mal so lang und 10 mal so breit werden wie ursprünglich ($18 \times 10 \mu$). Schreiner beobachtete bei Aussaat von Ascosporen, die ebenfalls leicht und rasch auskeimen, eine ähnlich starke Volumenzunahme zu Beginn der Keimung.

Meist geht aus einer Konidie ein Keimschlauch, seltener zwei hervor. Die jungen Myzelien sind reich verzweigt, septiert und zeigen schon zu Anfang ein stark verschlungenes Wachstum der Hyphen. Die Myzelfäden sind fein, meist nur 2,5—3,3 μ dick, gelegentlich noch dünner.

Auf 5 prozent. Malzextrakt-Nährböden (Schrägagarröhrchen oder Plattenkultur) zeigt der Pilz ein sehr charakteristisches Verhalten. Zunächst breitet sich das junge Myzel als dünnes, hyalines, dem Substrat dicht anliegendes Hyphengeflecht rasch über die Agaroberfläche aus. Danach entsteht ein niedriges, dichtwolliges, etwas flockiges, weißes oder grauweißes Luftmyzel, das bald teilweise hellbräunlich bis graubraun oder grau wird. Gleichzeitig beginnt auch das Substratmyzel sich zu verfärben (zunächst nur bei Beobachtung der Kulturen von der Unterseite her zu erkennen), bis mehr oder weniger die ganze Fläche schwarzoliv bis schwarz ist. Die Verfärbung beginnt meist an wenigen Stellen, die sich schnell verbreitern. Nach 2 bis 3 Wochen ist die Dunkelfärbung des Substratmyzels meist abgeschlossen; dann fängt das Luftmyzel an manchen Stellen an zusammenzusinken, wird feucht und haftet an der Agaroberfläche. Die Kulturen erhalten an den

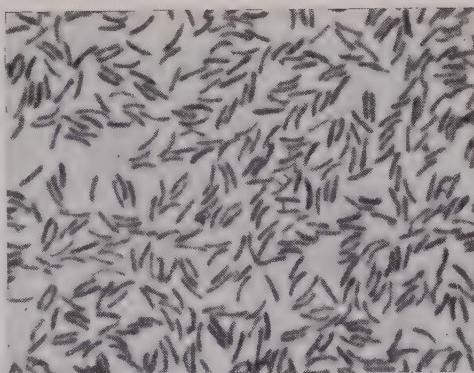


Abb. 10
Pyknosporen von *V. sordida*, angefärbt.
Vergr. 1000 mal

¹⁾ Bei Größenmessungen an Konidien verschiedener Herkunft (Konidienranken vom natürlichen Standort und von künstlich geimpften Pappelzweigen, aus Kulturen auf Pappelholz und Malzextraktagar) fanden wir nur unwesentliche Unterschiede: im Mittel 4,10—4,55 μ in der Länge und 0,9—1,2 μ in der Breite, Extremwerte 3,7—5,3 \times 0,75—1,5 μ .

betreffenden Stellen ein schwarzes, feuchtglänzendes Aussehen. Dadurch wird das Luftmyzel in einzelne, unregelmäßig gestaltete, mehr oder weniger ausgedehnte Polster aufgelöst, die zum Teil höher und üppiger werden. Im oberen Teil von Schrägagarrörchen bildet sich ein besonders hohes, lockeres Hyphengeflecht, das weiß bis weißgelblich oder grau bleibt, während sonst das Luftmyzel allmählich nachdunkelt und samtblau bis braunoliv wird.

Nach etwa 3 Wochen beginnen sich in den Luftmyzelpolstern knäulige Hyphenverflechtungen zu bilden, aus

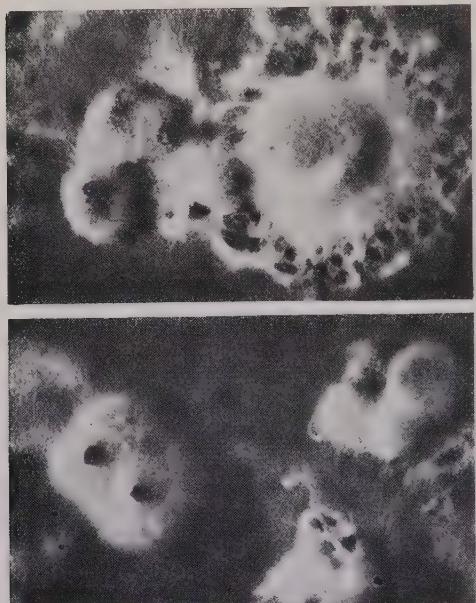


Abb. 11

Pyknidien von *V. sordida* aus künstlicher Kultur auf Malzextraktagar mit Konidientropfen an den Öffnungen, von hellem, wolligem Myzel überzogen, teilweise in Gruppen vereinigt. Oben: größeres Myzelpolster sinkt vom Rande her zusammen und wird in die dunkle Oberfläche der Kultur eingeschmolzen. Vergr. 7,5 mal

denen schließlich Pyknidien entstehen. Diese liegen einzeln oder in Gruppen beisammen und werden anfanglich durch ein dichtes Myzel ziemlich eingehüllt. Später sinkt der größte Teil des umgebenden Luftmyzels zusammen und wird zum Teil feucht. Die Pyknidien heben sich dadurch besser heraus und beginnen nach 5—6 Wochen gelbe Konidienmassen auszustoßen. Die Fruchtkörper sind verschieden groß, meist 2—4 mm im Durchmesser, zum Teil auch etwas größer oder kleiner; ihre Gestalt ist meist mehr oder weniger kugelig oder etwas abgeflacht; die Oberfläche ist von einem grauweißen, zum Teil auch bräunlichen feinen Myzel übersponnen (Abb. 11). In älteren Kulturen ist deutlich zu erkennen, daß die Pyknidien dem Nährsubstrat aufsitzen. Teilweise liegen sie zu mehreren so dicht beisammen, daß sie das umhüllende Myzel zu einem scheinbar einheitlichen Körper zusammenschließt; jede Austritts-

öffnung entspricht jedoch jeweils einer Pyknidie (Abb. 11). Die eigentliche Wandung ist stromaartig grauschwarz bis schwarz und sklerotisch, aber dünn; ein eigentliches solides Stroma fehlt bei künstlicher Kultur; es wird offenbar durch das die Pyknidien überziehende dichte Myzel vertreten¹⁾. Die aus der zentralen Öffnung austretenden Konidien bilden meist einen feuchtglänzenden, zähschleimigen, großen Tropfen. Konidienranken sind in Kultur selten, sind dick und kurz und bilden sich nur, wenn die Feuchtigkeit nicht zu hoch

¹⁾ Die Rückbildung des Stromas bei *Sphaeriales*-Arten auf künstlichen Nährböden erwähnt bereits Ruhland (1900, S. 75); jede morphologische Gliederung kommt dabei in Wegfall und statt des Stromas wird ein homogener myzelartiger Hyphenfilz gebildet, der die Fruchtorgane unvollkommen umschließt.

ist. Manchmal wird auch das Myzel auf der Pyknidienoberfläche feucht und klebt fest; die Fruchtkörper erhalten dadurch das Aussehen kegelförmiger Erhebungen, die an der Spitze zum Teil ein diskusähnliches Gebilde erkennen lassen. Der Bau ist jedoch von derselben Art wie bei den myzelumhüllten Pyknidien; das allmähliche Herauswachsen aus dem Substrat ist eine Erscheinung, die lediglich durch das zusammengesunkene Luftmyzel bedingt wird (Abb. 12). Die Konidienproduktion dauert mehrere Wochen an und richtet sich nach der verfügbaren Nährstoffmenge und nach der Feuchtigkeit.

Das Aussehen der Kulturen ist sehr veränderlich; einmal können sich verschiedene Stämme des Pilzes unter genau denselben Kulturbedingungen recht verschieden verhalten, ferner bewirken Verschiedenheiten in den Kulturbedingungen, z. B. in der Dicke der Agarschicht oft starke Unterschiede in der äußeren Erscheinung. Auf Plattenkulturen mit hoher Agarschicht dauert die Entwicklung des Pilzes länger an; dabei werden meist $\frac{9}{10}$ der Oberfläche feucht und schwarz, so daß schließlich nur noch die Pyknidien als kleine Erhabenheiten vorhanden sind. Auf flachem Agar bleibt umgekehrt viel mehr Luftmyzel am Ende des Wachstums erhalten, so daß die Kulturen zum Teil ein völlig verändertes Bild zeigen.

Schreiner (1931, S. 14) hat die Entwicklung des Pilzes auf verschiedenen Nährböden anderer Zusammensetzung beschrieben; bei einigermaßen gutem Wachstum wurden stets Pyknidien angelegt. Im übrigen wuchs der Pilz auf den benutzten Nährmedien meist schlechter und zeigte kein so charakteristisches Verhalten wie auf Malzextraktagar. Die Beschreibung, die früher bereits Long (1918) für das Verhalten der *Valsa sordida* in künstlicher Kultur gegeben hat, stimmt viel besser mit unseren Feststellungen überein.

Povah (1921) und Schreiner (1931) glaubten, daß vorher noch nie die Zusammengehörigkeit der Perithezien- und Pyknidienform des Pilzes durch exakte Kulturversuche bewiesen wurde. Dies trifft jedoch nicht zu, denn schon Münnich (1909, S. 153) hat gezeigt, daß durch Aussaat von Ascosporen gewonnene Myzelien genau dieselben Eigenschaften besitzen und die gleichen Pyknidien mit gelben Konidienmassen hervorbringen wie Kulturen, die durch Abimpfen von Pyknosporen erhalten wurden. Die noch älteren Versuche von Brefeld (1891, S. 42) beziehen sich nur auf Kulturen, die aus der Nebenfruchtform des Pilzes hervorgegangen sind. Sie zeigten, daß die große Bereitwilligkeit, auf künstlichen Substraten wiederum Pyknidien zu erzeugen, bei einer ganzen Anzahl anderer *Valsa*-Arten ebenfalls vorhanden ist. Perithezien wurden bislang in künstlicher Kultur noch nie beobachtet.

Um die Pyknidien- bzw. Stromabildung des Pilzes auf einem möglichst natürlichen Substrat verfolgen zu können, haben wir Versuche mit sterilisierten Pappelzweigen angesetzt. Frische Aststücke mit Rinde wurden längs gespalten und in Kolleschalen auf durchfeuchter Holzschißpappe ausgelegt, die Rindenseite nach oben, und nach Sterilisation mit Myzelflocken geimpft. Der Pilz entwickelte sich anfangs nur im Inneren der Aststücke, die er nach etwa einer Woche vollständig durchwuchert hatte; es entstanden auf den



Abb. 12
Pyknidien von *V. sordida*, schwarz, feucht glänzend durch Zusammensinken und Verfärben des Myzelmantels. Vergr. oben 7,5 mal, unten 15 mal

Stirnflächen des Holzkörpers lockere Myzelwatten. Nach etwa 4 Wochen hatte sich auch auf der Rinde ein lockeres, anliegendes, grauweißes Myzel gebildet, das stellenweise strangartige oder knäuelige Verdichtungen zeigte. Daraus entstanden frei auf der Rinde in spärlicher Verteilung Pyknidien von derselben Art wie auf den Agarkulturen, die nach etwa 2 Monaten reiften und keimfähige Konidien hervorbrachten. Es handelte sich ebenfalls um dünnwandige, in Myzel eingehüllte Körperchen ohne eigentliches Stroma. Gelegentlich sank auch hier das umhüllende Myzel zusammen und ließ die Fruchtkörper als schwarze, krustige, halbkugelige bis kegelförmige Gebilde in Erscheinung treten (Abb. 13). Ebenso gestaltete Pyknidien wurden gelegentlich auch in der Rinde, d. h. unter den Schuppen und in Spalten der Borke, gebildet, jedoch nur, wenn die Feuchtigkeit in der Kultur nicht zu hoch war. Unter natürlichen Bedingungen entstehen die Fruchtkörper niemals frei, auch nicht auf unberindetem Holz, sondern stets in das Rindenperiderm eingesenkt. Auf sterilisierten Pappelzweigen verhält sich der Pilz dagegen hinsichtlich seiner Fruktifikation ähnlich wie auf Agarnährböden.



Abb. 13

Luftmyzel und Pyknidien von *V. sordida* aus Reinkultur auf sterilisierten Pappelzweigen, schwarze, halbkugelige Gebilde frei auf der Oberfläche der Rinde. Vergr. 5 mal

Schreiner (1931, S. 18) hat *Valsa sordida* auf sterilisierten Zweigen von zahlreichen anderen Holzarten, im ganzen 29 Spezies aus den verschiedensten systematischen Gruppen, sogar auf Nadelhölzern kultiviert. Die Kulturen wuchsen auf allen verwendeten Holzarten bis auf *Tsuga canadensis*; meist war das Wachstum ebensogut oder noch besser als auf Pappelholz unter reichlicher Pyknidienbildung.

Daraus geht hervor, daß für saprophytisches Wachstum offenbar zahlreiche Holzgewächse in Betracht kommen. Es ist damit zu rechnen, daß künftig noch mehr Fälle aufgedeckt werden, wo der Pilz außer *Populus* auch andere Gehölze als fakultativer Parasit befällt (vgl. S. 472).

Bei verschiedenen, aus Einspormyzelien gewonnenen Stämmen beobachteten wir unter gleichen Kulturbedingungen ein teilweise abweichendes Verhalten. Die Verschiedenheiten erstreckten sich vor allem auf die Wachstumsgeschwindigkeit der Myzelien, die Färbung des Luftmyzels und auf die Menge der Pyknidien, bzw. den Umfang der Myzelpolster bei der Entstehung der Pyknidien. Früher ist es schon Münch (1909, S. 1539) aufgefallen, daß Kulturen von verschiedenem Ausgangsmaterial erhebliche Unterschiede in der Färbung des Myzels zeigen können; er hat z. B. neben braunen auch lebhaft grüne Färbungen beobachtet. Auch Schreiner (1931) berichtet über eine beträchtliche Variabilität unter den von ihm isolierten Stämmen, die sich auf eine ganze Anzahl von Eigenschaften erstreckte; z. B. bestanden auffallende Verschiedenheiten in der Wuchsform, besonders in der Randbeschaffenheit

der Pilzkolonien auf Agarplatten, in der Menge des Luftpymyzels und in der Pyknidienbildung. Auch bezüglich der Temperaturabhängigkeit des Myzelwachstums konnte Schreiner Unterschiede zwischen einzelnen Stämmen nachweisen. Bei unseren später besprochenen Versuchen mit künstlicher Infektion von lebenden Pflanzen waren keine Unterschiede im Virulenzgrad zwischen verschiedenen reinkultivierten Stämmen festzustellen, und auch Schreiner erwähnt nichts in dieser Hinsicht. Dies schließt jedoch nicht aus, daß die zweifellos vorhandene große Neigung des Pilzes zur Rassengenese sich nicht auch auf sein parasitäres Verhalten erstreckt.

e) Die Fruktifikation des Pilzes unter natürlichen Bedingungen

Valsa sordida bildet seine Fruchtkörper in der Natur stets im Rindengewebe der Bäume; es werden hier gegen das Wirtsgewebe mehr oder weniger gut abgegrenzte flachkegelförmige Stromata angelegt von einem Bau, den man früher als Valseentypus bezeichnet hat (Abb. 14). Sie bestehen aus einer grauschwarzen, plektenchymatischen, an den Seiten sklerotischen Myzelmasse. In der Regel wird nur die Nebenfruchtform gebildet, die in der

Literatur als *Cytospora chrysosperma* bekannt ist und durch charakteristisch gebaute Pyknidien gekennzeichnet wird. Die Pyknidienstromata durchbrechen bei Reife die äußeren Peridermschichten, so daß graue bis schwarze Pusteln von 0,5—1 mm Durchmesser sichtbar werden. Die Pusteln entsprechen dem sogenannten Diskus der Stromata (Abb. 15), die zentral den einzigen Ausführgang der Pyknidie tragen. Die Stromata werden erst nach dem Absterben der Rinde reif; durch die Schrumpfung des austrocknenden Rindengewebes heben sich schließlich die Stromahöcker deutlich heraus. Doch sind Bilder, wie sie die Abb. 6 wiedergibt, nur an jüngeren Ästen mit noch dünner Rinde wahrzunehmen. Bei stärkeren, dickrindigen Ästen und bei Stämmen liegen die Stromata meist so tief in der Rinde, daß nur die austretenden Sporenmassen ihr Vorhandensein verraten. Erst durch Herauspräparieren bzw. durch Rindenquerschnitte lassen sich hier die Stromata direkt sichtbar machen.

Jedes Stroma enthält eine „zusammengesetzte“ Pyknidie, die in zahlreiche unregel-



Abb. 14

Pyknidienstroma von *V. sordida* aus Pappelrinde, Medianschnitt, solides, dunkles Stromagewebe mit Mittelkammer und einzelnen „loculi“. Vergr. 20 mal

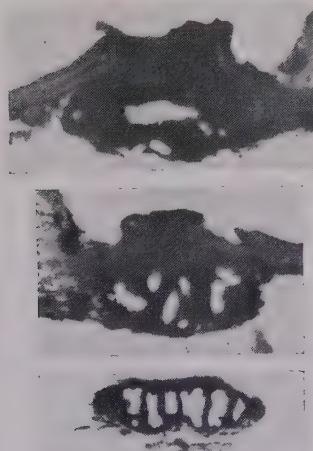


Abb. 15

Stromata von *V. sordida* aus Pappelrinde; oben und Mitte: mit gut entwickeltem Diskus, verschiedenartige Kammerung; unten: Schnitt durch den Randteil eines Stromas, durch Septen voneinander getrennten „loculi“. Vergr. 20 mal

mäßig gestaltete, labyrinthähnliche Aussackungen (Kammern, loculi) gegliedert ist. Unter natürlichen Bedingungen gebildete Stromata lassen gewöhnlich eine mehr oder minder ausgeprägte Trennung in ein mehr grau-schwarz gefärbtes Ectostroma, dem auch die das Periderm durchbrechende Scheibe angehört, und das darunterliegende dunklere und lockerere Entostroma erkennen. Letzteres ist an der Basis wenig scharf gegen das Rindengewebe abgegrenzt. Die Differenzierung in Ecto- und Entostroma ist jedoch bei Reife, wie bereits Ruhland (1900, S. 52, 55) bei nahe verwandten Arten festgestellt hat, oft nicht mehr deutlich wahrzunehmen. Die Pyknidie wird im Entostroma gebildet, nach Ruhlands Beobachtungen meist aus vielen einzelnen Anlagen (bei *V. nivea* etwa 70—80), die sich schließlich in Höhlungen umwandeln und dann miteinander in Verbindung treten. Teilweise werden auch Teile des Ectostromas in die Pyknidie mit einbezogen. Die entostromatische Entstehung der Pyknidien scheint ein Sonderfall in dieser Verwandtschaftsgruppe zu sein, denn bei anderen Valsseen geht die Bildung der Pyknidien von dem dort deutlich ausgebildeten Ectostroma aus. Wenngleich bei den *Valsa*-Arten die Trennung der beiden Stromaschichten nicht mehr überall klar beibehalten wird, so ist doch wohl an der von Ruhland dargelegten Entwicklungsgeschichtlichen und vergleichend morphologischen Bedeutung dieser Bildungen bei den stromaerzeugenden Sphaeriales kaum zu zweifeln.



Abb. 16

Pyknidien von *V. sordida* aus Kultur auf Malzagar, Querschnitte; sehr unregelmäßige Kammerung und lockere Beschaffenheit der dünnen Außenbeschicht und der Kammerinnenwände. Vergr. 26 mal

etwas tieferliegenden, strahlenförmig nach allen Seiten sich erstreckenden Aussackungen zusammenstoßen (Abb. 14). Auf Schnitten durch die Randteile der Pyknidien beobachtet man die durch senkrechte Wände voneinander getrennten „loculi“ (Abb. 15). Im Gegensatz zu dem verhältnismäßig regelmäßigen Bau der natürlich gebildeten Pyknidien mit ihren ziemlich in einer Ebene ausgetretenen Kammern zeigen die in künstlicher Kultur entstandenen Konidienfruchtkörper eine völlig ungeregelte Kammerung (Abb. 16). Die „loculi“ sind zum Teil erheblich größer und sehr verschiedenartig gestaltet; sie erfüllen das Innere der mehr oder weniger kugeligen Körperchen nahezu vollständig. Das Gewebe der Außenwand und der meist wirr durcheinanderlaufenden inneren Kammerwände ist lockerer und meist weniger dunkel gefärbt als bei den natürlichen Pyknidenstromata.

Die Innenwände der Pyknidenkammern sind dicht mit fadenförmigen Sterigmen besetzt, die in großer Menge Konidien abschnüren. Die Hohl-

räume der Kammern sind von ihnen erfüllt. Die Sporenmasse wird, in einen Schleim eingebettet, als gold- bis orangegelbe, spiralig gewundene, 2—5 cm lang werdende Fäden, sogenannte Konidienranken, ausgepreßt. Werden Aststücke unter entsprechenden Bedingungen im Laboratorium gehalten, so lassen sich Ranken von fast 8 cm Länge gewinnen, die wie wirre Haare herabhängen. Ihre Farbe wird durch Austrocknen deutlich dunkler und erhält dann einen orangeroten Ton. Im Freien sind die Konidienranken, die bei starkem Befall oft als dichtes Gewirr die Zweige bedecken, nur bei trockenem Wetter haltbar, solange der erstarrte Schleim die Konidien zusammenhält. Bei hoher Feuchtigkeit und regnerischem Wetter zerfließen die Fäden rasch und die austretenden Massen sammeln sich dann in großen gelben Tropfen auf den Pyknidienmündungen. Durch Niederschläge werden die Konidien abgespült und weiterverbreitet. Die Bildung von Konidien wird in derselben Pyknidie längere Zeit fortgesetzt; nach einer Unterbrechung durch Trockenheit kann bei günstiger Witterung die Produktion offenbar wieder von neuem beginnen. Eigenartig ist die Erscheinung, daß innerhalb weniger Sekunden bis 6 mm lange Sporenfäden ausgepreßt werden können, wenn man trockene, mit Pyknidien besetzte Pappelzweige befeuchtet. Der Vorgang beruht auf der Quellung des Stromagewebes und der eingeschlossenen trockenen Konidienmasse, so daß der Innenraum der Pyknidie zu klein wird.

Das Peritheziestadium von *Valsa sordida* wurde im Vergleich zu den Pyknidien sehr viel seltener gefunden. Wir haben bei unserem Material vergebens danach gesucht. Auch Long (1918) hat bei seinen umfangreichen Erhebungen in den südwestlichen Staaten von Nordamerika nie die Ascusform des Pilzes feststellen können. Schreiner (1931) berichtet, daß er von 1924—1930 zu allen Jahreszeiten erkrankte Pappelzweige untersucht hat und nur im Herbst und Winter 1929/30, dann allerdings ziemlich reichlich und an Material von verschiedenen Fundorten, die peritheziengängigen Stromata fand. Münch (1909) und Povah (1921) beobachteten die Perithezi- und die Pyknidienform an denselben Befallsstücken. Nach Groves Angaben (1923) scheinen die Perithezien in England häufiger vorzukommen. Über die Bedingungen, unter denen sie entstehen, wissen wir bei diesen Pilzen noch nichts; das sporadische Auftreten ist auf jeden Fall eigenartig. Andere *Valsa*-Arten scheinen sich in dieser Hinsicht teilweise ebenso zu verhalten. So fand Schreiner bei der ebenfalls auf Pappeln vorkommenden *V. nivea* nur einziges Mal die Peritheziiform.

Die flaschenförmigen Perithezien liegen nach Schreiner (1931) tiefer in der Rinde als die Pyknidien und sind in ein sehr lockeres Stroma eingebettet, das an der Basis keine erkennbare Grenze gegen das Rindengewebe besitzt. Auch ein besonderes Ectostroma tritt nicht in Erscheinung. Die Perithezien können leicht isoliert werden; ihre Hälse münden mehr oder weniger deutlich zu einem Kreis geordnet auf der dunkelgrauen bis schwärzlichen Stomascheibe. Schreiner hält es nicht für ausgeschlossen, daß die Perithezien in den tiefsten Entostromaschichten alter Pyknidien entstehen und mit ihren Hälsen später das kollabierte Pyknidiengewebe durchstoßen, denn er fand Pyknosporen in beträchtlicher Menge in der Hyphenmasse der Peritheziestromata. Es würde dies mit der Angabe von Münch (1909) in Einklang stehen, daß die Perithezien „erst nach dem Abblühen der Pyknidien an deren Stelle“ auftreten. Die Frage kann exakt nur durch entwicklungs geschichtliche Studien geklärt werden. Nach den Beobachtungen von Ruhland (1900, S. 47, 54) an *Valsa nivea* (Pers.) Fr. und *V. salicina* (Pers.) Fr. hat man

eher den Eindruck, daß die Perithezien im besonderen (kleineren) Stromata entstehen, denn es ist bei diesen Arten zwischen Perithezien- und Pyknidienstromata ein beträchtlicher Größenunterschied.

d) Unterscheidung der *Valsa sordida* von anderen *Valsa*-Arten auf Pappel

Die zur Gattung *Valsa* gehörigen Rindenpilze sind vielfach noch wenig erforscht; die große Zahl der bisher beschriebenen Formen macht den Überblick recht schwierig. Die für Mitteleuropa als Bewohner von Pappelzweigen angegebenen wichtigeren Arten sind, abgesehen von *V. sordida*, folgende:

Subgenus *Eutypa* Tul.

Valsa Eutypa (Achar.) Nitschke. Stroma diatrypeenartig weit ausgebreitet, schwarz, in das Holz eindringend, in der Jugend mit haarartigem Überzug aus freien schwarzen Konidienträgern; Pyknidien (*Cytospora Acharii* Sacc.) als schwachgewölbte Warzen auf dem Stroma, weiße Konidienranken entlassend; Perithezien ziemlich gleichmäßig im Stroma zerstreut, meist tief in das Holz eingesenkt. Auf zahlreichen Laubhölzern.

Valsa flavovirescens (Hoffm.) Wint. Stroma vielgestaltig, krustenartig ausgebreitet oder in Pusteln, außen schwarz, innen gelbgrün gefärbt; Pyknidien (*Cytospora flavo-virens* Sacc.) mit stark entwickelten Kammerwänden, dadurch fast mehrfächig, daneben freie Konidienträger in schwarzen haarartigen Rasen; Perithezien ordnunglos im Stroma verteilt mit stumpf kegelförmigen Mündungen. Auf zahlreichen Laubhölzern.

Subgenus *Cryptosphaeria* Greville.

Valsa populina (Pers.) Wint. Stroma in der Rinde mehr oder weniger ausgebreitet, schwarz, unregelmäßig, häufig polsterartig aufgetrieben, keine Pusteln bildend; Perithezien zerstreut mit herausragenden Mündungen. Auf *Populus*.

Subgenus *Euvalsa* Nitschke.

Valsa germanica Nitschke. Pyknidienstromata (*Cytospora germanica* Sacc.) gestutzt-kegelförmig, unten dünnwandig, das Periderm mit grauen Scheiben durchbrechend, mit kleiner schwarzer Papille und ziemlich breiten Kammern, die in einem großen Hohlraum zusammenstoßen; Perithezienstromata sehr schwach entwickelt, nur aus einer grauen bis bräunlichen sterilen Scheibe bestehend, darum die Perithezien kreisförmig geordnet, frei im Rindengewebe, meist außerhalb der Scheibe mündend. Auf *Populus*, *Salix*, *Betula*.

Valsa ambiens (Pers.) Fries. Stromata pustelartig, gestutzt-kegelförmig, schwarzgrau mit weißen, grauen, graubraunen oder schwärzlichen Scheiben das Periderm durchbrechend; aus den Pyknidien (*Cytospora ambiens* Sacc.) hellrötliche bis weiße Konidienranken austretend; Perithezien mit der Basis in unverändertes Rindengewebe eingesenkt, gruppenweise mit den Hälsen die Stomascheiben durchstoßend; gilt als Sammelart von unsicherer Abgrenzung. Auf zahlreichen Laubhölzern.

Subgenus *Leucostoma* Nitschke.

Valsa nivea (Pers.) Fries. Stromata bilden linsenförmige Körper, die als Pusteln mit schneeweisser Scheibe das Periderm durchbrechen, an der Basis durch eine dunkle krustenartige gewölbte Schale (Conceptaculum) deutlich gegen das Rindengewebe abgegrenzt; Pyknidien (*Cytospora nivea* [Hoffm.] Sacc.) blaßrote bis purpurrote Konidienranken entlassend; Perithezien vollständig im Stroma eingeschlossen. Auf *Populus*.

Die ersten drei Arten können durch das völlig anders gestaltete, flächenhaft ausgebreitete, umfangreiche Stroma kaum Anlaß zu einer Verwechslung mit *V. sordida* geben. *V. flavovirescens* ist in den Fällen, in denen das hier sehr wandlungsfähige Stroma in Form einzelnstehender Pusteln entwickelt ist, durch die gelbgrüne Färbung des Stromainneren leicht zu erkennen. Anders liegen die Verhältnisse bei den übrigen Arten mit kleinen valseenartigen Stromapusteln, die besonders dann, wenn nur die Pyknidienfrüchte vorliegen, teilweise nicht immer leicht zu unterscheiden sind. Die Arten wachsen zum

Teil auf mehreren Holzarten, so daß auch durch den Einfluß des Wirtsorganismus gewisse Verschiedenheiten in der Erscheinungsform der Fruchtkörper bei demselben Pilz zustande kommen können (vgl. hierzu D é f a g o 1944). Ein sicher wenig verlässliches Merkmal ist die Farbe der Stromascheiben; sie kann bei derselben Art von hell bis fast schwarz variieren. Es scheint auch weitgehend vom Alter der Rindenpusteln abzuhängen, in welcher Färbung sie sich dem Beobachter darbieten; da die Stromata lange erhalten bleiben können und die Pyknidien dementsprechend lange Zeit funktionsfähig sind, ist es verständlich, daß allmählich eine Nachdunkelung der aus dem Periderm herausragenden Teile eintritt. Selbst die im Namen verankerte schneeweisse Färbung des Diskus bei *V. nivea* ist kein unbedingt verlässliches Merkmal, denn Schreiner (1931) hat neuerdings festgestellt, daß die Scheiben auch hier grau oder schwärzlich gefärbt sein können.

Bei *V. germanica* ermöglichen die fast ohne jedes Stroma entstehenden Perithezen mit ihren schlanken und stark zugespitzten Schläuchen eine leichte Unterscheidung. Auch die dünnwandigen Pyknidienstromata und der Bau der Pyknidien selbst mit ihrem großen zentralen Hohlraum sind verhältnismäßig gut zu erkennen. Anders ist dies bei *V. ambiens*, die der *V. sordida* sehr nahekommt und wohl schon verschiedentlich zu Verwechslungen Anlaß gab. Winter (1887, S. 723) gibt als brauchbares Unterscheidungsmerkmal die „dünneren“ Ascosporen und Konidien von *V. sordida* an. Wie aus der Zusammenstellung in Tabelle 1 hervorgeht, hat *V. ambiens* deutlich größere Schläuche und Ascosporen. Ob die im Vergleich mit *V. sordida* etwas längeren Konidien für eine sichere Trennung ausreichen, sei dahingestellt. Von den leicht zugänglichen Merkmalen scheinen uns die gelbe Farbe und die sehr lange und dünne Form der Konidienranken, die wohl bei keiner anderen Art so lang und kraus verschlungen sind, die beste Kennzeichnung für *V. sordida* zu sein¹⁾. Zwar wird für *V. ambiens* außer weißlicher und blaßrötlicher auch gelbe Färbung der Ranken angegeben (Winter 1887, S. 731). Man wird in der Vermutung nicht fehlgehen, daß die hier gemeinten Stücke mit gelben Ranken in Wirklichkeit zu *V. sordida* gehörten.

Daß derartige Verwechslungen leicht vorkommen, geht aus der Beschreibung von Long (1918) hervor, der für *Cytospora chrysosperma* auch dunkelrote Rankenfarbe angibt. Es dürften kaum Zweifel bestehen, daß hier eine Verwechslung mit *V. nivea* vorliegt. Diese Art ist durch ausgesprochen rote Konidienranken ausgezeichnet und lebt nach Schreiners Feststellung in den Vereinigten Staaten nicht nur saprophytisch sondern auch als krebs erzeugender Parasit neben *V. sordida* auf Pappelpflanzen. Das Schadbild ist genau dasselbe wie bei *V. sordida* und kann nicht zur Unterscheidung dienen, die Virulenz des Pilzes ist jedoch geringer. Rote Konidienranken dürften

¹⁾ Nach dem von uns untersuchten Material ist bei *Valsa ambiens* die dunkle Außen schicht der Stromata meist wesentlich fester als das viel hellere innere Hyphengeflecht, aus dem sich die zusammenhängenden Pyknidienkammern leicht herauslösen lassen. Bei *Valsa sordida* fanden wir das Stromagewebe im ganzen dichter und auch im Innern dunkler; es blieb mit den Pyknidienkammern stets in innigem Zusammenhang. Doch scheinen in dieser Beziehung Verschiedenheiten je nach der Beschaffenheit der Rinde und der Entwicklungs weise der Fruchtkörper vorzukommen.

Tabelle 1

Einige Maßangaben für *Valsa*-Arten auf Pappelrinde mit valseenartigem Stroma, zusammengestellt unter Benutzung der Angaben bei Winter (1887) und Schreiner (1931)

	Konidien Länge \times Breite μ	Zahl der Perithezien je Stroma	Perithezien Bauch- durch- messer μ	Perithezien Halslänge μ	Schlüche Länge \times Breite μ	Ascosporen Länge \times Breite μ
<i>V. sordida</i> . .	4-4,5 $\times 0,9-1$	2-18	400-740 (500)	400-750 (500)	40-60 $\times 5-8$	9-12 $\times 1,5-2$
<i>V. nivea</i> . . .	5-6 \times 1	4-18 (-20)	250-450 (350)	400-600	48-60 $\times 8-9$ (30 \times 5)	12-14 \times 3 (8 \times 1,3)
<i>V. ambiens</i> . .	5-7 \times 1	4-20	—	—	40-88 $\times 8-9$	16-24 $\times 3-6$
<i>V. germanica</i> .	5-6 $\times 1,5$	3-9	—	—	72 \times 8	10-20 $\times 3-4$

jedenfalls auf *V. nivea* hinweisen, auch in den Fällen, in denen die Stroma-scheibe nicht die bezeichnende weiße Farbe besitzt. Im übrigen ist die Art durch die kleineren Perithezien (Tabelle 1) und das auch an der Basis deutlich gegen das Wirtsgewebe abgegrenzte Stroma gut von *V. sordida* zu unterscheiden. Bei letzterer Art wird das Gewebe des Entostromas nach unten lockerer und geht allmählich in das unveränderte Periderm über, ohne die als Conceptaculum bezeichnete Trennungsschicht auszubilden.

4. Bedingungen für die parasitäre Ausbreitung von *Valsa sordida*

a) Infektionsversuche

Eine Infektion des lebenden Gewebes von Pappelpflanzen gelingt sowohl durch Beimpfen mit Pyknosporen als auch mit Myzel. Im letzteren Fall wurden kleine, von jungem Myzel überwachsene Agarblöckchen verwendet. Für die Versuche wurden einerseits lebende Äste und in Stücke zersägte Stämme von Pappelheistern, andererseits bewurzelte junge Stämmchen im Freiland benutzt. Die Impfung erfolgte meist in Einschnitte in die Rinde, die noch ein Stück weit in den Holzkörper hineinreichten. Nach dem Beimpfen wurden die Stücke entweder in eine feuchte Kammer gebracht, oder die Impfstellen wurden durch einen feuchthaltenden Verband aus wassergetränkter Watte und Olpapier geschützt; die Verbände wurden zwei Wochen nach der Impfung entfernt.

Ein derartiger Versuch brachte beispielsweise folgendes Ergebnis:

14. Juli 1947. Etwa 35 cm lange und 2-3 cm starke Abschnitte junger Stämmchen von *Populus canadensis* an mehreren Einschnitten mit Myzel geimpft, bei etwa 25°C in feuchter Kammer gehalten, mit der Basis in Wasser eintauchend.

21. Juli. Starke Kallusbildung an den Einschnitten, im unteren Teile der geimpften Hölzer beginnende Wurzelbildung; auf der Rinde stellenweise lockeres grauweißes Myzel dicht über den Impfstellen.

16. August. Besonders im unteren Teil der Stütze Rinde mit grauem lockeren Myzel übersponnen, innere Rinde und Kambium größtenteils abgetötet und geschwärzt, weiter oben Bildung von schwarzen Stromata unter der Rinde, die nach einiger Zeit gelbe Konidienmassen ausstoßen; Holzkörper von Myzel durchwuchert.

Der gleiche Befund ergab sich bei Beimpfung von Rindeneinschnitten mit Konidien bei sonst gleicher Behandlung der Versuche. Auffallend war auch hier das rasche Umsichgreifen des Befalls, so daß es nach kurzer Zeit zu völliger Abtötung der Rinde und zur Bildung von Pyknidienfrüchten kam. Wurde nur die obere Schnittfläche der Pappelhölzer mit Konidien oder Myzel beimpft, so griff der Befall zwar nicht mit derselben Schnelligkeit wie bei dem eben beschriebenen Versuch, aber doch so rasch um sich, daß die neu gebildeten Laubtriebe abstarben, ehe sie eine Länge von 3 cm erreicht hatten. Bei allen diesen Versuchen blieben die Kontrollstücke völlig gesund und entwickelten in der feuchten Kammer reichlich Wurzeln und Sprosse. Durch entsprechende Vorsichtsmaßregeln müssen allerdings spontane Infektionen vermieden werden, die durch herumfliegende *Cytospora*-Konidien an den oberen Schnittflächen leicht eintreten können.

Unter denselben Bedingungen durchgeführte Versuche mit Aufstreichen einer Konidienaufschwemmung auf die unverletzte Rinde, nachdem die oberen Schnittflächen der verwendeten Abschnitte von Pappelstämmchen mit Paraffin abgedichtet worden waren, ergaben nur in einigen wenigen Fällen (4 von 30) eine Infektion; die Bedeutung von Wundstellen für das Zustandekommen eines Befalls wird dadurch unterstrichen. Die verwendeten Holzproben waren besonders ausgesucht und ohne erkennbare Verletzungen an der Rinde. Die wenigen Stücke, bei denen es zu einer Infektion kam, scheinen irgendwelche verdeckte Schadstellen gehabt zu haben. Die Versuche wurden bis zum 20. Tag nach der Impfung beobachtet; eine eingetretene Infektion durch *V. sordida* ist innerhalb dieser Frist stets sicher zu erkennen.

Bei weiteren Versuchen wurden 50—60 cm lange Abschnitte aus stärkeren Stämmchen von *Populus tremula* verwendet mit einem Durchmesser von 5—7 cm, die nach dem Beimpfen (Schnittinfektion) in 40 cm hohen Standgläsern mit etwas Wasser im Gewächshaus aufgestellt wurden; an den Stammstücken wurden einige kleine beblätterte Zweige stehengelassen. Auch bei diesen stärkeren Stammstücken griff der Befall rasch um sich, obwohl infolge der dicken Borkenschicht eine Schädigung äußerlich zunächst kaum zu erkennen war. Im übrigen war das Bild das übliche: innerhalb von 4 bis 6 Wochen Absterben und Schwärzung großer Teile der inneren Rinde und des Kambiums. Pyknidien mit gelben Konidienranken bildeten sich hier in einer etwa 15 cm langen Zone auf halber Länge der Stammstücke etwas unterhalb des oberen Randes der Standgefäß. Durch die Versuchsanordnung bestand in den Holzstücken ein Feuchtigkeitsgefälle von unten nach oben; in ihrem mittleren Abschnitt stellten sich dabei offenbar Bedingungen ein, die für die Ausreife der Pyknidien günstig waren. Weiter unten in den Gefäßnen wurde durch äußerlich wachsendes Myzel angezeigt, daß die Feuchtigkeit in der Rinde wohl zu hoch war.

An bewurzelten Pflanzen von *Populus tremula* an Freilandstandorten in der Nähe von Tharandt wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt; die verwendeten Pflanzen waren einmal junge Heister von 1,5—2 cm Stärke in 50 cm Höhe gemessen, ferner etwas ältere Bäumchen mit einem Stammdurchmesser von 5—7 cm in der gleichen Entfernung vom Boden. Die Impfung

erfolgte an Rindeneinschnitten jeweils an zwei übereinanderliegenden Stellen, 50 und 80 cm über dem Boden, mit myzelüberwachsenen Agarblöckchen. Bei den Kontrollpflanzen wurde in gleicher Weise verfahren, nur war der Agar steril.

Reihe 1: Impfung 12. Mai 1947, 12 dünne und 8 stärkere Stämmchen, die Kontrollen ausgenommen, Pflanzen voll ausgetrieben. Bei 7 der schwachen Stämmchen trat Befall ein, und es bildeten sich während des Sommers Krebsstellen; im folgenden Winter sind die Pflanzen alle eingegangen und haben nicht wieder ausgetrieben. Die Stämmchen, bei denen die Infektion fehlgeschlagen ist, zeigten auch später keine Schädigung; die Impfstellen vernarbten rasch. Von den stärkeren Pflanzen bildete nur eine eine kleine, eine zweite eine größere Krebswunde, die übrigen 6 blieben ohne Befall. Bei den beiden befallenen Stämmchen zeigte von August an die Befallsstelle eine rasche Vergrößerung; bis zum folgenden Frühjahr war die Rinde in einer breiten Zone rings um den Stamm abgestorben, so daß die Bäumchen eingingen.

Reihe 2: Impfung 15. August 1947, jeweils 10 Stämmchen beider Größenklassen; die Pflanzen litten unter der anhaltend trockenen und heißen Witterung des Sommers. Die kleinen Stämmchen wurden alle befallen und sind während des Winters eingegangen ohne krebsartige Veränderungen an den Impfstellen; der Pilz entfaltete hier eine hohe Virulenz. Von den Stämmchen der zweiten Gruppe wurden 7 so befallen, daß sie im folgenden Jahr infolge ringförmiger Abtötung der Stammrinde abgestorben sind, wie zumeist unter Bildung von Pyknidien im Bereich der infizierten Rinde; nur 3 Bäumchen blieben gesund. Eine der Kontrollpflanzen dieser Versuchsreihe (im ganzen 3 und 3) ist während des Winters ebenfalls erkrankt und später eingegangen, offenbar infolge spontaner Infektion.

Das Ergebnis der Freilandversuche kann etwa dahin zusammengefaßt werden, daß eine Infektion gegen Ende der Vegetationszeit viel leichter gelingt als im Frühjahr, wenn die Pflanzen im vollen Saft stehen. Bei jungen Stämmchen ist die Anfälligkeit größer als bei älteren. Während der Wintermonate macht der Befall die größten Fortschritte und kann rasch zum Absterben der Pappelpflanzen führen.

b) Bedingungen für die Infektion

Wenn man irgendwelche Zweige oder Aststücke von Pappeln in eine feuchte Kammer bringt, so kann man in vielen Fällen nach einiger Zeit gelbe Konidienranken hervorbrechen sehen, ohne daß vorher etwas von einer Schädigung zu erkennen war. Man kann den Pilz auf Pappelrinde fast als allgegenwärtig bezeichnen, ohne daß er aber im allgemeinen mehr ist als ein harmloser Saprophyt, der wohl in den abgestoßenen Borkenteilen ein bescheidenes Dasein fristet. Untersucht man das Astwerk älterer Pappeln genauer, so findet man nicht selten auf abgestorbenen Zweigen und Aststümpfen die charakteristischen Rindenpusteln, die bei Befeuchtung gelbe Konidienranken aussstoßen. Dennoch findet unter normalen Verhältnissen ein Übergreifen des Pilzes auf gesunde Teile des Baumes kaum in solchem Ausmaß statt, daß von einer parasitären Schädigung die Rede sein kann. Aus allen Beobachtungen über den *Cytospora*-Krebs der Pappel ergibt sich, daß erst besondere Bedingungen erfüllt sein müssen, damit der Pilz eine gefährliche Virulenz entwickeln kann. Einmal muß das lebende Gewebe infiziert werden und zweitens muß dann der Befall mit einer solchen Geschwindigkeit fortschreiten können, daß eine ins Gewicht fallende Schädigung des Wirtsorganismus eintritt.

Grüne Teile der Pappelpflanzen, Blätter, Blattstiele und junge unverholzte Triebe, erwiesen sich bei unseren Versuchen in Übereinstimmung mit

Schreiner (1931) als immun gegenüber dem Pilz. Ein Befall kann nur an den holzigen Teilen erfolgen, aber nur dort, wo der schützende Abschluß durch die Rinde durch irgendwelche Einwirkungen eine Unterbrechung erfahren hat. Solche Infektionsstellen sind einmal regelrechte Rindenverletzungen (Wunden), dann aber auch abgestorbene Teile des Pflanzekörpers, in denen der Pilz sich zunächst saprophytisch festsetzen und danach weiter gegen das lebende Gewebe vordringen kann. Eine gewisse Bedeutung dürften auch Insektenfraßstellen für die Infektion besitzen, bei uns vor allem Beschädigungen durch den Pappelbock (*Saperda carcharias* L.), die dem Pilz das Eindringen erleichtern.

Von größerer Wichtigkeit für das Auftreten der Krankheit ist im allgemeinen der zweite Fall, denn tote Zweige und Aststümpfe, die als Startstellen für die parasitäre Ausbreitung dienen können, sind in den meisten Fällen vorhanden. Dementsprechend dringt die Krankheit in der Regel vom Zweigwerk nach den stärkeren Ästen und von da weiter gegen den Stamm vor, bis der Baum abstirbt. Über die Voraussetzungen für eine derartige Ausdehnung des Befalls wird im folgenden Abschnitt berichtet.

Zu den Infektionsstellen an abgestorbenen Teilen gehören auch Brandbeschädigungen an der Stammrinde, wie sie entstehen, wenn ein Baumbestand durch Bodenfeuer heimgesucht wird. Povah (1921) konnte zeigen, daß dieser Fall praktisch große Bedeutung erlangen kann; er wies nach, daß in einer brandgeschädigten Pappelpflanzung der *Cytospora*-Krebs nur dort auftrat, wo das Feuer hingekommen war; in den anderen Teilen fand sich kein Pilzbefall. Daß durch Feuer abgetötete Teile einen guten Ausgangspunkt für den Befall durch Pilze dieser Art bilden, haben Henni (1916) und Togashi (1924) experimentell für an Obstgehölzen schädlich werdende *Valsa*-Arten nachgewiesen; künstliche Infektionen an durch Brennen abgetöteten Stellen griffen in viel stärkerem Maße auf das lebende Gewebe über als solche an glatten Schnittflächen.

Die große Empfänglichkeit von Pappelstecklingen für den Befall durch *Valsa sordida*, die man in den Vereinigten Staaten des öfteren festgestellt hat, beruht nicht zuletzt darauf, daß die Steckhölzer von der oberen Schnittfläche her immer eine Strecke weit eintrocknen und die so entstehenden toten Stümpfe über dem obersten Trieb ein günstiges Substrat abgeben, von dem aus der Pilz unter Umständen weiter vordringen kann. Ähnliche Verhältnisse entstehen auch durch Beschniden des Astwerkes der Bäume. Pappeln und Weiden sind in manchen Gebieten Nordamerikas beliebte Schattensäume, die man gerne an Straßen, auf Plätzen und in Hausgärten pflanzt. Zur Erzielung einer gefälligen Kronenform werden die Bäume oft stark beschnitten; teilweise führt man sogar einen vollständigen Rückschnitt des Astwerkes nach Art der Kopfweiden durch, ohne Rücksicht auf die dadurch entstehenden umfangreichen Verletzungen. Einmal ermöglicht ein solches Vorgehen dem Pilz durch die Wundflächen den unmittelbaren Zutritt zu den inneren Geweben, andererseits ist es auch bei sorgfältigem Arbeiten nie ganz zu vermeiden, daß eingetrocknete Stümpfe entstehen, die ein gutes Ausgangssubstrat für einen Befall bilden.

Inwieweit der Pilz an offenen Wunden unmittelbar das lebende Gewebe befallen kann, ist noch nicht geklärt; möglicherweise bedarf es in jedem Fall sozusagen einer saprophytischen Vorkultur in totem oder zum mindesten stark geschwächtem Gewebe, um den Übergang zum aktiven Parasitismus zu ermöglichen. Während der Vegetationszeit werden Infektionen, wenn die Verletzungen nicht zu groß sind, bei kräftigem Wachstum der Bäume häufig durch ein Vernarbungsgewebe abgegrenzt und unschädlich gemacht. Im Herbst und Winter, wenn das Restitutionsvermögen ruht und damit die natürlichen Abwehrkräfte stark herabgesetzt sind — oder bei schwächlichem Wachstum während des ganzen Jahres — ist der Pilz jedoch in der Lage, rasch tiefer in den Pflanzenkörper einzudringen. Die Infektionsgefährdung ändert sich daher im Zusammenhang mit dem jahresperiodischen Aktivitätswechsel des Wirtsorganismus.

Die Ausbreitung des Pilzes dürfte fast ausschließlich durch die in den Pyknidien massenhaft erzeugten Konidien erfolgen. Ein wichtiges Transportmittel bildet dabei der Regen, der die Konidienmassen abwäscht und auf andere Teile des Baumes weiterträgt; auch die eigentliche Infektion dürfte sich wohl bei Regenwetter abspielen. Daneben dürfte zur Überwindung weiterer Entfernungen auch die Verbreitung durch Tiere (Insekten und Vögel) und durch den Wind eine Rolle spielen (Long 1918); die Konidienranken werden bei Trockenheit hart und spröde und zerbrechen dann leicht. Die Ascosporen scheinen für die Verbreitung des Pilzes kaum Bedeutung zu besitzen, da die Hauptfruchtform zu selten auftritt. Dabei ist zu erwähnen, daß nach Münch's Beobachtung die Perithezen sich offenbar nicht spontan entleeren, sondern vielleicht erst zerfallen müssen, damit die Ascosporen frei werden.

c) Normale zeitliche Krankheitsdisposition

Nach erfolgter Infektion kann sich der Pilz im lebenden Gewebe nur dann rasch weiter ausbreiten, wenn der Wirtsorganismus in irgendeiner Weise geschwächt oder in seinen Abwehrkräften beeinträchtigt ist. Zum Verständnis der hierbei maßgeblichen Umstände ist die Kenntnis der Wachstumsbedingungen des Pilzes wichtig. Die ersten Hinweise in dieser Richtung hat bereits Münch (1909, S. 98—100) gegeben; seine Befunde wurden später in allen wesentlichen Punkten durch die amerikanischen Phytopathologen bestätigt, ohne daß ihnen die Münch'schen Versuche bekannt waren. Münch konnte nachweisen, daß die wichtigste Voraussetzung für eine rasche Ausbreitung von *Valsa sordida* in lebenden Pappelzweigen ein verminderter Wassergehalt des Gewebes ist. Zweigstücke, die durch Liegen an der Luft verschieden stark angetrocknet waren, wurden an den Schnittflächen mit Konidien infiziert; an der Schwärzung der Rinde ließ sich danach die Ausbreitung des Befalls verfolgen. Dabei ergab sich ein viel rascheres Fortschreiten bei den Proben, deren Wassergehalt am stärksten, um etwa ein Fünftel des Zweiggewichtes herabgesetzt war. Dabei ist wesentlich, daß der Wassergehalt noch weit mehr gesenkt werden kann, als es für das optimale Gedeihen des Pilzes erforderlich ist, ohne daß eine Schädigung des Zweig-

gewebes eintritt. In vollsaftigen Zweigen trat kein Wachstum des Pilzes ein. Es handelt sich dabei um eine Gesetzmäßigkeit, die M ü n c h (1909) bei zahlreichen Holzpilzen als gültig erkannt hat und mit dem Sauerstoffbedürfnis der parasitierenden Myzelien zusammenhängt. Bei hohem Wassergehalt sind die in Holz und Rinde enthaltenen Luftvorräte nur gering; ein gewisses Minimum an Luft muß jedoch vorhanden sein, wenn Myzelwachstum stattfinden soll.

Eine Verminderung des Wassergehaltes in Holz und Rinde tritt regelmäßig während der Vegetationsruhe der Holzgewächse ein; deshalb bieten die Herbst- und Wintermonate besonders günstige Voraussetzungen für die Ausbreitung eines Befalls durch *Valsa sordida*. Mit dem Saftsteigen im Frühjahr nimmt der Wassergehalt der Gewebe wieder rasch zu und die Wachstumsbedingungen für den Pilz werden damit ungünstig; seine weitere Ausbreitung kommt im wesentlichen zum Stillstand, ein günstiger Entwicklungszustand der Wirtspflanze vorausgesetzt. Eine normale, zeitlich begrenzte Disposition für den parasitären Befall ist also infolge der Herabsetzung der Wasserführung jeweils im Winter gegeben. Es hängt dann in der Hauptsache von den Infektionsgelegenheiten ab, ob eine Schädigung eintreten kann oder nicht. Besondere Abwehrkräfte vermag die Pflanze offenbar während der Vegetationsruhe dem Pilz nicht entgegenzusetzen. Damit wird es verständlich, daß die Hauptentwicklung des *Cytospora*-Krebses in die Winterperiode fällt; den Winter über macht der Parasit die größten Fortschritte, und Pflanzen, die am Ende des Sommers noch einen völlig gesunden Eindruck machen, können im folgenden Frühjahr bereits tot sein.

Sehr eindringlich zeigte sich dies bei den eingangs beschriebenen Schäden im Pappelgarten von Graupa. Das verstärkte Umsichgreifen der Krankheit während des Winters war schon M ü n c h (1909, S. 152) bekannt; er beobachtete einen Stillstand des Mycelwachstums mit dem Laubausbruch wenigstens in der Rinde, hielt jedoch im Holzkörper eine weitere Ausbreitung den Sommer über für möglich, auf jeden Fall im Spätsommer; dabei dürfte es sich allerdings bereits um kränkelnde, in ihren normalen Funktionen gehemmte Bäume gehandelt haben. In ähnlicher Weise zeigte sich bei unseren eigenen Freilandversuchen, daß Impfungen gegen Ende des Sommers einen viel höheren Anteil an befallenen Pflanzen ergeben als Impfung im Frühjahr, denn die Wasserführung war bereits im Absinken; dazu kam die Beeinträchtigung des Wasserhaushaltes der Bäume durch die sommerliche Dürre, wodurch dem Pilz das Durchwuchern der Gewebe erleichtert war.

Ein gutes Beispiel für die Bedeutung des Wassergehaltes des Wirtsorganismus für einen Befall durch *Valsa sordida* bieten die Versuche von Schreiner (1931, S. 21/22). Pappelstecklinge wurden im November/Dezember im Gewächshaus angetrieben; bei sofortiger Impfung, solange sich das Holz noch im Winterzustand befand, ergab sich eine Abtötung von 90—100 %. Bei Infektionsversuchen ab Mitte Januar, als die Pflanzen bereits zu treiben begannen, waren die Ausfälle schon wesentlich geringer; es wurden hauptsächlich die schwächeren Exemplare abgetötet, kräftige Pflanzen wurden nicht befallen oder entwickelten nur eine kleine Krebsstelle. Impfungen an dem

zum Eintrocknen neigenden Teil der Steckhölzer über dem Spitzenauge führten stets zum Befall, da sich hier das Gewebe mangels eines darüberliegenden Zugauges nicht genügend mit Vegetationswasser sättigen konnte. Auf derselben Ursache beruhte die Erscheinung, daß sich der Pilz bei unseren Infektionsversuchen mit Stammabschnitten von Pappelheistern zuerst in einem eng umschriebenen Bezirk über dem quergerichteten Einschnitt der Impfstellen entwickelt hat. Hier war durch den Einschnitt die unmittelbare Wasserzuführung von unten her unterbrochen, so daß das Gewebe einen etwas geringeren Wassergehalt aufwies.

Die winterliche Ausbreitung der Krankheit setzt eine entsprechende Temperatureinstellung des Pilzes voraus. Nach Schreiners Versuchen liegt das Temperaturoptimum für die Myzelentwicklung ungefähr bei 25°C , doch ist bei 4°C das Wachstum immer noch so stark, daß unter natürlichen Bedingungen während des größten Teils der Herbst- und Winterzeit ein Fortschreiten des Befalls möglich ist. Die bei *Valsa sordida* festgestellte Neigung zur Rassenbildung dürfte sich auch in bezug auf die Temperaturanpassung auswirken und zur Entstehung von lokalen Klimarassen führen.

d) Krankhafte Dauerdisposition der Wirtspflanzen

Der normalen zeitlichen Disposition ist die pathologische Dauerdisposition für einen *Valsa*-Befall gegenüberzustellen, wobei die Anfälligkeit des Wirtsorganismus durch einen krankhaften Schwächezustand gesteigert ist. In den Vereinigten Staaten von Amerika, wo der Pilz in viel größerem Ausmaß als bei uns an Pappelkulturen schädlich wird, wurde als Vorbedingung für einen stärkeren Befall stets ein irgendwie gearteter Schwächezustand festgestellt; sei es durch ungünstige Standortsbedingungen, die kein freudiges Wachstum der Bäume zulassen, oder Schädigung durch Bodentrockenheit, sei es infolge schlechter Bewurzelung der zur Neuanlage von Pappelkulturen verwendeten Pflanzlinge, ungünstigem Bodenzustand oder schlechter Bodenvorbereitung, so daß das An- und Weiterwachsen der Bäumchen erschwert war. Da bei Schädigungen der verschiedensten Art, die die Vitalität der Pflanzen einschränken, zugleich auch der Wasserhaushalt gestört wird, dürfte auch hierbei in Übereinstimmung mit der Auffassung von M ü n c h die verminderte Wasserführung der Gewebe für den Befall ausschlaggebend sein.

Daß an manchen Standorten frisch gepflanzte Pappeln immer wieder den Angriffen durch den Pilz erliegen können und dadurch kein höheres Alter erreichen, ist bereits aus M ü n c h s Darlegungen zu entnehmen. M ü n c h glaubte, daß hierbei die Bodenverhältnisse ausschlaggebend waren. Daß auf manchen Standorten der Pappelanbau durch *Cytospora*-Krebs zum Erliegen gebracht werden kann, zeigte sich auch auf einer Versuchsfläche im Tharandter Wald:

Hier wurden durch Professor M ü n c h vor Jahren in 400 m Höhe auf vernäßtem, als schlechtem Fichtenstandort bekanntem, gleiartigem Boden über nährstoffarmem Porphyrr zwei verschiedene Provenienzen von *Populus tremula* angebaut. Die Tharandter Herkunft starb im Laufe der Zeit unter Verkümmерungserscheinungen fast völlig ab. Da an den noch vorhandenen Resten starker *Valsa*-Befall festgestellt wurde, dürfte das Eingehen der Bäume

letzten Endes durch diesen Pilz herbeigeführt worden sein, nachdem es durch die Standorts-umstände und verschiedene andere Schädlinge zu einer nachhaltigen Schwächung der Pflanzen gekommen war (vgl. M ü n c h 1949). Die zweite, aus Livland stammende Aspenherkunft wuchs dagegen gut ohne wesentliche Ausfälle, obwohl sie denselben nachteiligen Wirkungen ausgesetzt war, aber trotzdem kräftig genug blieb, um der *Valsa* widerstehen zu können. Derselbe Versuch wurde gleichzeitig in Hauglage mit besseren Bodenbedingungen angelegt. Hier gediehen beide Provenienzen; die einheimische war gegenüber der baltischen Herkunft sogar etwas vorwüchsiger. Die Erklärung ist wohl die, daß die einheimische Aspe, die in ihrem spontanen Vorkommen Böden der oben gekennzeichneten Art meidet, hier nur ein unzureichendes Wurzelwerk entwickelte; in trockenen Jahren, wenn der Grundwasserstand zurückging, litten die schwächer gebliebenen Pflanzen unter Wassermangel und wurden durch *Valsa sordida* befallen. Die baltischen Aspen besitzen dagegen der Eigenart ihrer heimatlichen Standorte entsprechend auch auf gleiartigen Profilen eine gute Bewurzelungsfähigkeit. Auf derselben Versuchsfläche ist auch ein Anbau von Schwarzpappeln völlig mißlungen und es liegt nahe, daß auch in diesem Fall der *Cytospora*-Krebs bei der Vernichtung der Bäume im Jugendstadium maßgeblich beteiligt war, nachdem sie infolge der Ungunst des Standortes keine genügenden Abwehrkräfte gegenüber einem Pilzbefall entwickeln konnten. In ähnlicher Weise dürfte auch ein an anderen Orten beobachtetes Versagen von Pappelanpflanzungen vielleicht zum Teil auf einen unerkannten Befall durch den Schwächerparasiten *Valsa sordida* zurückgehen. Da Pappeln in ihren verschiedenen Arten und Sorten zwar teilweise etwas verschiedene, aber im allgemeinen ziemlich hohe Anforderungen an die Nährstoff- und Wasserversorgung stellen, liegt es auf der Hand, daß schlechte Wachstumsbedingungen die Anfälligkeit durch Parasiten erhöhen.

Die Bedeutung der Vitalität für die Pilzfestigkeit läßt sich durch einen einfachen Versuch zeigen. Stellt man einen größeren, völlig gesunden Pappelzweig in ein Gefäß mit Wasser, so tritt nach einigen Wochen, wenn das Zweiggewebe an Lebenskraft verliert und sich Funktionsstörungen einstellen, fast regelmäßig ein spontaner Befall durch *Valsa sordida* ein. An dickeren Astabschnitten, die nur langsam austrocknen, kommt es schließlich auch zur Bildung von Pyknidien.

In Nordamerika ist die *Valsa*-Krankheit besonders in den semiariden Gebieten des Südwestens (Arizona, New Mexico, Kansas usw.) verbreitet; dort werden Pappeln weniger in geschlossenen Beständen als vielmehr in großem Ausmaß im Einzelstand als Zier- und Schattenbäume gepflanzt. Unter derartigen Bedingungen ist im Verein mit dem Allgemeinklima der Wasserhaushalt der Bäume naturgemäß sehr angespannt und die geringste Störung oder Schwächung des Organismus kann bereits günstige Voraussetzungen für den Pilzbefall schaffen. Wenn unter solchen Verhältnissen durch starkes Beschneiden der Baumkronen reichlich Infektionsgelegenheiten geboten werden, so ist ein seuchenhaftes Umsichgreifen des Pilzes unvermeidlich. In Gebieten, in denen die Wasserversorgung infolge klimatischer Umstände leicht unzureichend sein kann, ist es besonders wichtig, durch geeignete Maßnahmen die Bäume immer in freudigem Wachstum zu halten. Junganlagen müssen gegebenenfalls sogar bewässert werden, um gegen *Valsa*-Befall vorzubeugen. Auch Beschädigungen durch Waldbrände können infolge der damit verbundenen Wachstumschwächung eine Disposition für den *Cytospora*-Krebs erzeugen (P o v a h 1921). Bei krankhafter Disposition beschränkt sich das Umsichgreifen des Erregers keineswegs auf die Zeit der Vegetationsruhe; der Pilzbefall dehnt sich vielmehr unter Umständen auch im Frühjahr und Sommer stark aus und führt, wenn der Stamm oder stärkere Äste erkrankt sind, zum Abwelken des höherliegenden Zweigwerkes. Auch bei den von uns durchgeführten Infektionsversuchen muß die Dürreschädigung der Bäume durch die langandauernde

Hitze und Trockenheit im Sommer 1947 für die erhöhte Anfälligkeit verantwortlich gemacht werden, so daß nach künstlicher Infektion junge Heister von *Populus tremula* hundertprozentig, etwas ältere Bäume zum großen Teil abgestorben sind. Dürreinwirkung dürfte auch zugrunde liegen, wenn im trockenen Südwesten Nordamerikas *Populus tremuloides* besonders stark durch *Valsa sordida* befallen wird und hier vielleicht dadurch die Grenze ihres natürlichen Vorkommens erreicht.

Der *Cytospora*-Krebs ist vor allem eine Jugendkrankheit der Pappel. Jungpflanzen sind in viel stärkerem Maße davon bedroht als ältere Bäume, was auf der labileren physiologischen Verfassung am Anfang der individuellen Entwicklung beruht, so daß leichter und häufiger die Pilzanfälligkeit erhöhende Schwächezustände eintreten können. Im Nordosten der Vereinigten Staaten gelten die dortigen Aspenarten (*Populus tremuloides* Michx. und *P. grandidentata* Michx.) bis zum 8.—10. Jahr als am meisten gefährdet. Bei geschlossenen Anlagen betrachtet man dort die durch den Pilz verursachten Ausfälle als natürlichen Auslesevorgang, der für die sowieso erforderliche Bestandeslichtung sorgt und forstlich ohne größeren Nachteil ist, zumal in der Regel nur die schwächeren, im Bestand unterdrückten Pflanzen betroffen werden. Auch bei unseren Versuchen erwiesen sich die ganz jungen Bäume als bedeutend anfälliger als etwas ältere. Geradezu verheerend kann sich die *Cytospora*-Krankheit bei Stecklingspflanzen auswirken. Long (1918) berichtet, daß verschulte Steckhölzer in einem Fall zu 66 %, in einem zweiten Fall sogar zu 99 % spontan infiziert worden waren, so daß die Pflanzen abstarben, nachdem die grünen Triebe teilweise schon eine ziemliche Länge erreicht hatten. Bei alten Pappeln besteht meist keine unmittelbare Gefährdung. Zwar kann sich der Pilz im Zweigwerk mehr oder weniger ausbreiten, doch übertrifft der jährliche Zuwachs in der Regel die durch den Pilz verursachten Ausfälle. Unter extremeren Klimabedingungen können allerdings, wie Long mitteilt, auch ältere Bäume ernstlich geschädigt werden und zurücksterben.

Bei älteren Bäumen kommen Infektionen am Stamm teilweise wieder zum Stillstand und werden überwältigt. Da das Myzel des Pilzes unter Umständen aber auch weit in den Holzkörper eindringt, kann es dort fortwachsen und umfangreiche Zerstörungen verursachen, die an Ausdehnung die äußerlich erkennbaren Spuren des Befalls weit übertreffen. Man muß mit der Möglichkeit rechnen, daß solche zunächst abgedämmten Infektionen wieder nach außen durchbrechen und von innen her die gesunde Rinde erfassen, wenn hierfür förderliche Bedingungen eintreten.

5. Möglichkeiten der Krankheitskontrolle

a) Bekämpfungsmaßnahmen

Der wichtigste Resistenzfaktor gegen *Cytospora*-Krebs ist die Vitalität der Pflanzen. Daher wirken alle Maßnahmen, durch die der Kraftzustand und die Wuchsfreudigkeit der Bäume verbessert werden, der Krankheit entgegen. Vor allem im Jugendstadium ist es von Wichtigkeit, daß keine Entwicklungsstockungen eintreten; durch entsprechende Pflegemaßnahmen

müssen die Pflanzen in freudigem Wachstum gehalten werden. Geeignete Bodenverhältnisse und eine ausreichende Nährstoff- und Wasserversorgung bilden die wesentlichen Voraussetzungen. Im einzelnen wird es von den örtlichen Verhältnissen abhängen, in welcher Weise man unterstützend eingreifen kann, um die Gefahr eines Pilzbefalls zu vermeiden.

Bei der Neuanlage von Pappelkulturen ist auf die Auswahl geeigneter Standorte und der jeweils passenden Arten und Sorten auch im Hinblick auf die Pilzgefährdung zu achten. Durch ungünstige Wasserverhältnisse verursachte Dürreschäden können gerade bei Jungpflanzen infolge Austrocknung der Zweigspitzen leicht zu einem ausgedehnten Befall führen. Bei jungen Pappeln ist es besonders wichtig, daß alle Beschädigungen an oberirdischen Teilen — dazu gehören auch abgestorbene Zweigteile — vermieden werden, die dem Pilz als Infektionsstellen dienen können. Darum ist es notwendig, daß besonders das Jugendwachstum gleichmäßig und ohne Störung verläuft. Auch bei älteren Bäumen sind Verletzungen an Stamm und Krone soweit als möglich zu vermeiden, um die Pflanzen nicht verstärkten Angriffen durch den Pilz auszusetzen.

Pflanzmaterial sollte immer auf Pilzfreiheit geprüft werden. Pappelgärten, Baumschulen und Anzuchtstationen für Pappeln müssen unbedingt frei von *Valsa sordida* gehalten werden; alles erkrankte Material muß laufend entfernt und sofort vernichtet werden, damit eine Verschleppung nach Möglichkeit ausgeschaltet wird. Aus infizierten Steckhölzern lassen sich keine gesunden Pflanzen hochbringen; sie bilden eine dauernde Gefahr für die übrigen Jungpflanzen, die, einmal befallen, mit ziemlicher Gewißheit verloren sind.

In Nordamerika hat man beobachtet, daß Pappelruten, die zur Stecklingsvermehrung bestimmt und während des Winters in der üblichen Weise in Sand eingeschlagen waren, vollständig von *Valsa sordida* durchwuchert wurden und abstarben (Schreiner 1931a, S. 81). Dort ist auch eine Verschleppung der Krankheit in großem Ausmaß durch infiziertes Baumschulmaterial nachgewiesen worden (Long 1918). Wo der Pilz bedrohlich auftritt, haben nur kräftige und wüchsige Stecklinge Aussicht, zu brauchbaren Pflanzen heranzuwachsen. Von amerikanischer Seite wird empfohlen, die Steckhölzer beim Verschulen vollständig mit Erde zu bedecken, damit dem Pilz jede Infektionsmöglichkeit genommen ist. Long hat ein besonderes Anzuchtverfahren entwickelt, bei dem die ganzen Pappelruten unzerschnitten in flache Gräben horizontal in den Boden gelegt und mit Sand abgedeckt werden. Über der Erde erscheinen dann nur die aus den Knospen hervorgehenden grünen Triebe, die gegen Pilzbefall immun sind; sie liefern später nach dem Herausnehmen und Vereinzeln ein gesundes Pflanzmaterial.

Im praktischen Fall werden sich aus den näheren Umständen in der Regel Hinweise auf die für die Erkrankung im einzelnen maßgeblichen Umstände ergeben und daraus Schlußfolgerungen, wie in Zukunft größere Schäden vermeidbar sind, ziehen lassen. Der starke Befall im Pappelgarten Graupa muß beispielweise auf erkrankte, aber unbeachtet gebliebene Pappelpflanzen in der Nähe und in der Anlage selbst zurückgeführt werden, von denen die Infektion der Mutterstöcke ausging und sich dann flächenhaft weiter ausgebreitet hat. Vielleicht bestand durch das Fehlen ausreichender Düngemittel während der Kriegsjahre

auch ein gewisser Nährstoffmangel im Boden, wodurch die Anfälligkeit erhöht wurde. Ein wesentlicher Umstand für die ungewöhnlich rasche Ausdehnung des Befalls ist vor allem in den zahlreichen Schnittwunden und abgestorbenen Stellen an den Kopfseiten der Pappelstöcke, die von dem jährlichen Schnitt der Ruten herrühren, zu erblicken. Wenn man jedoch für eine planmäßige Beseitigung aller Infektionsquellen Sorge trägt, so kann auch bei der beim Betrieb eines Pappelgartens unvermeidlichen Verletzung der Stöcke unter unseren Verhältnissen ein stärkeres Umsichgreifen der Krankheit verhindert werden. Nach einer gründlichen Säuberung der Graupaer Anlage von allen erkrankten Pflanzen ist die Krankheit in der Folgezeit in größerem Umfang nicht wieder aufgetreten. Auch nach dem sehr trockenen Sommer 1947 und dem milden Winter 1947/48 sind trotz der für den Pilz günstigen Klimabedingungen nur wenige Stöcke abgestorben; sie zeigten dieselben Absterbeerscheinungen wie bei dem starken Befall im Winter 1945/46 und schlugen nicht wieder aus, nachdem sie im vorhergehenden Herbst noch prächtige Schößlinge getragen haben.

Chemische Mittel sind bisher bei der Bekämpfung des *Cytospora*-Krebses noch nicht eingesetzt worden. Vielleicht wäre in Pappelgärten eine vorbeugende Behandlung der Stöcke mit Obstbaumkarbolineum oder einem ähnlichen Schutzmittel nach dem Abnehmen der Ruten zweckmäßig. Von amerikanischer Seite wird zur Sanierung befallener Pappeln Entfernung und Ausschneiden erkrankter Teile und Desinfektion der Wunden mit Kreosot oder Teeröl empfohlen (Long 1918). Bei starker Erkrankung sind die Stämme jedoch besser zu entfernen und durch andere zu ersetzen oder gegebenenfalls auf den Stock zu setzen und aus einem Wasserschoß nachzuziehen.

b) Anbau resistenter Sorten

Die Hauptnährpflanze von *Valsa sordida* ist zweifellos die Pappel; außerdem werden in gewissem Umfange auch Weidenarten befallen. Bereits Münch (1909, S. 152) hat den Pilz auf drei Pappelarten als Parasit beobachtet, nämlich auf *Populus tremula*, *P. tremuloides* und *P. alba*. Long (1918) fand ihn dann in den südwestlichen Vereinigten Staaten auf elf verschiedenen Pappel- und drei Weidenarten, darunter der Trauerweide (*Salix babylonica*). Gelegentlich wird der Pilz auch auf anderen Gehölzen parasitär. So stellte ihn Hubert (1920) außer auf Pappeln auch auf drei Arten von *Acer* und auf jeweils einer Art von *Prunus*, *Sorbus* und *Sambucus* fest; auch Moss (1922) beobachtete den Pilz neben den *Populus*-Arten auf dem Zuckerahorn (*Acer saccharinum*).

Schon den amerikanischen Forschern ist aufgefallen, daß die verschiedenen Pappelarten gegenüber *Valsa sordida* eine unterschiedliche Anfälligkeit aufweisen, doch liegen noch wenig genauere Angaben darüber vor. In Nordamerika erwiesen sich *Populus deltoides* Marsh. (bei uns meist unter der Bezeichnung Kanadische Pappel, *P. canadensis*, bekannt) und *P. alba* L. als hochanfällig (Long 1918, Moss 1922). Die in den semiariden Südweststaaten beheimatete *P. Wistrixenii* Sarg erwies sich unter den dortigen Wuchsbedingungen dagegen als sehr resistent und wird für den Anbau besonders empfohlen; die Art hält offenbar auch dort noch gut stand, wo andere Arten unter dem schwächenden Einfluß zeitweiliger Trockenheit dem Angriff des Pilzes leicht erliegen.

Im Pappelgarten von Graupa war Gelegenheit zu beobachten, wie die dort vermehrten Pappelarten und -bastarde sich unter mitteleuropäischen Verhältnissen gegenüber dem Pilz verhalten. Am anfälligsten war *Populus deltoides* in ihren verschiedenen Formen und Herkünften: 50—80 % der Stöcke in den einzelnen Quartieren wurden vernichtet. Es folgten die Bastardformen *P. robusta* und *P. vernirubens* mit mittelstarker Schädigung,

wobei etwa $\frac{1}{4}$ der Stöcke dem Angriff des Pilzes erlagen. Bei der nahe verwandten Bastardpappel *P. Bachelierii* kann die Anfälligkeit als gering bezeichnet werden; nur an wenigen Stellen (etwa 10 %) griff der Pilz von den stark befallenen Nachbarquartieren auf diese Form über. Ganz oder fast ganz frei von Schäden blieben *P. Eugenii* und die zu den Balsampappeln gehörigen Formen *P. trichocarpa* und *P. berolinensis*, obwohl die Beete teilweise mitten zwischen stark befallenen *deltoides*-Quartieren lagen. Nur in einem Beet waren an verschiedenen Stellen einige Stöcke von *P. trichocarpa* infiziert, dennoch kann diese Form als weitgehend resistent gelten. Auch unter den verschiedenen Sorten der hochanfälligen *P. deltoides* könnten sich einige resistentere Typen befinden, doch liegen darüber keine genauen Ermittlungen vor. Die im Frühjahr 1948 festgestellten geringen Schäden sind eigenartigerweise gerade bei *P. trichocarpa* und *P. berolinensis* eingetreten, die sich bei der großen Kalamität 1946 als widerstandsfähig erwiesen hatten. Man darf daraus schließen, daß zu verschiedener Zeit bzw. unter verschiedenen Verhältnissen sich auch gewisse Unterschiede in den Resistenzenschaften zeigen werden. Gerade *P. trichocarpa* stellt ja besonders hohe Ansprüche an die Güte des Standortes.

Der in neuerer Zeit immer mehr an Interesse gewinnende Pappelanbau, besonders zur Erzeugung von Zelluloseholz, macht es notwendig, den Krankheiten und Feinden des Baumes künftig auch bei uns eine erhöhte Aufmerksamkeit zu widmen. Es ist zu erwarten, daß neben den eigentlichen Zuchtsorten vorwiegend nordamerikanischer Abstammung künftig auch die bisher stark vernachlässigte einheimische Aspe eine gewisse waldbauliche Rolle spielen wird, besonders nachdem Münch (1949) zeigen konnte, daß nordeuropäische Herkünfte von *P. tremula* auch bei uns Wuchs-eigenschaften beibehalten, die sie zu einer wirtschaftlich wertvollen Holzart machen. Für die Wiederaufforstung der heute vorhandenen umfangreichen Kahlfächen wird von Sachverständigen gerade der Aspe und gegebenenfalls auch anderen Pappelarten im Rahmen einer Vorwaldwirtschaft Bedeutung beigemessen. Damit wird der Pappelanbau von den Auenböden und diesen ähnlichen Standorten auch auf Standorte mit ganz anders gearteten Bedingungen ausgedehnt, wo wiederum neue Probleme gerade auch hinsichtlich der Krankheitsbedrohung auftreten werden. In diesem Zusammenhang wird Gelegenheit sein, auch über die bisher in Deutschland wenig beachtete *Valsa*-Krankheit der Pappel neue Erfahrungen zu sammeln. Die hier mitgeteilten Beobachtungen, insbesondere auch über das Vorkommen des Pilzes auf der Aspe an ihren natürlichen Standorten, lassen erwarten, daß die Krankheit bei uns weiter verbreitet ist, als bisher bekannt war.

6. Andere parasitär werdende *Valsa*-Arten

Unter den der *Valsa sordida* ähnlichen Rindenpilzen gibt es nur wenige, die als Krankheitserreger eine größere Bedeutung erlangt haben. Eine gefährliche Krankheit, die in den Wäldern Nordamerikas verheerende Schäden verursacht hat, ist der *Endothia*-Krebs der Edelkastanie. Der Erreger, *Endothia parasitica* (Murr.) Anderson (Sphaeriaceae), erzeugt valseenartige Perithezien- und Pyknidienstromata in der Rinde, wovon letztere Konidienranken ausstoßen (Boyce 1938, S. 296). Ferner zählen einige parasitär werdende

Diaporthe-Arten hierher, z. B. *D. aristata* (Fr.) Karst. die in Nordeuropa eine Krebskrankheit an jungen Birken verursacht (Neger 1924, S. 152), und *D. ambigua* Nitschke, die gelegentlich als Rindenparasit der Birne auftritt (Sorauer 1928, S. 673); eine *Diaporthe*-Art erwähnt auch Rich mond (1932) als Erzeuger von Krebs an *Ulmus americana*. Die Nebenfruchtformen dieser Pilze gehören zu *Phomopsis*. Eine gewisse Bedeutung besitzt bei uns *Caudospora taleola* (Fr.) Starb. als Erreger einer krebsartigen Rindenkrankheit an jungen Stämmchen und Zweigen der Eiche (Neger 1924, S. 152).

Unter den als Schädlinge bekanntgewordenen Formen der umfangreichen Gattung *Valsa* gibt es nur wenige, die öfters und in größerem Umfange als Ursache von Rindenkrankheiten an Holzgewächsen beobachtet wurden. Besonders hervorzuheben sind wohl nur *V. leucostoma* Pers., eine Art, die in Deutschland als Erreger des sogenannten rheinischen Kirschbaumsterbens bekannt wurde, aber auch sonst als Obstbaumschädling auftritt, und *V. oxystoma*, eine auf Erlenarten parasitierende Form. Eine Reihe weiterer Arten sind wohl mehr oder weniger nur als Gelegenheitsschädlinge anzusehen. Nach dem, was wir bisher wissen, ist das Gemeinsame aller dieser mit unserer *Valsa sordida* nächst verwandten Pilze, daß sie nur fakultative Parasiten sind, die im allgemeinen saprophytisch leben und nur unter bestimmten Voraussetzungen parasitär werden. Es handelt sich wohl durchweg um Organismen, die in der Regel an Wundstellen in das Wirtsgewebe eindringen und nur bei einem gewissen Schwächezustand der Wirtspflanze einen stärkeren Befall verursachen können; die Fruchtkörper der Pilze erscheinen immer erst auf der abgestorbenen Rinde. In Übereinstimmung mit den bei *V. sordida* gemachten Feststellungen scheint auch bei den verwandten Arten ein im allgemeinen aus krankhafter Ursache verringelter Wassergehalt die eigentliche Disposition für einen ausgedehnteren Befall hervorzurufen. Leider enthalten nicht alle Mitteilungen über derartige Erkrankungen Angaben über die zum Verständnis der Befallsbedingungen erforderlichen Umstände; doch gibt es keine gegenteiligen Beobachtungen, die auf einen grundsätzlich andersartigen Charakter der Erkrankungen schließen lassen.

Im folgenden sind die wichtigsten Angaben über rindenbewohnende *Valsa*- bzw. *Cytospora*-Arten zusammengestellt, die bisher als Urheber parasitärer Erkrankungen an Gehölzen festgestellt wurden¹⁾:

Valsa ambiens (Pers.) Fries, angegeben als Krankheitsursache an Kanadischen Pappeln in Italien (Voglino 1910), ferner als Erreger einer Krebskrankheit an *Ulmus americana* in Illinois, USA. (Harris 1932, S. 52).

Valsa cincta Fries, verursachte Zweigsterben und Laubwelke an *Prunus*-Arten in der Schweiz ähnlich dem Kirschbaumsterben durch *V. leucostoma* Pers. (Schellenberg 1920).

Valsa Friesii (Duby) Fuck., wahrscheinlich als Ursache von Zweigsterben oder Gipeldürre an Nadelbäumen. Infektion an Rindenverletzungen meist im Herbst, Ausbreitung des Myzels während der Vegetationsruhe; in Sachsen Schäden an Weißtanne durch

¹⁾ Ein physiologisch anderes Verhalten zeigt der hier außer Betracht bleibende Erreger des punktförmigen Schwarzbrenners der Weinrebe, *Valsa vitis* (Schwein.) Fuck., indem die Infektion an Blättern und grünen Trieben stattfindet (Schellenberg, Ber. dtsch. bot. Ges. 30, 586, 1912). Ein vermutlich hierher gehöriger, aber unvollständig bekannter Pilz, der auch in den grünen Teilen der Pflanze parasitiert, ist *Cytospora sacchari* Butl. auf dem Zuckerrohr (Butler, Ind. Dept. agr. Mem., bot. ser. 1, 30, 1906).

einen vermutlich hierher gehörigen Pilz (Beck 1900), in der Schweiz durch einen ähnlichen Organismus an Fichte (Scheellenberg 1907), in British Columbia Befall an brandgeschädigten Douglasien (Dearnell und Hansbrough 1934).

Valsa japonica Miyabe et Hemmi, als Erreger von Krebs an *Prunus*-Arten in Japan (Hemmi 1916).

Valsa Kunzei (Fr.) Nitschke, verursachte Krebs und Zweigsterben an Zierfichten in Amerika (Giltgut 1936).

Valsa leucostoma Pers., Erreger von Krebs und Zweigsterben bis zur völligen Vernichtung bei Kern- und Steinobst, Infektion an Rindenverletzungen, Ausbreitung in wasserarmem Gewebe nach Schwächung durch ungünstige Klimaeinwirkung und dergleichen, bewirkte Epidemie an Kirschbäumen im Rheinland (Aderhold 1903, Münch 1909, S. 149), in Amerika schädlich am Pfirsich (Rolfs 1910) und Apfel (Leonian 1921).

Valsa mali Togashi, verursachte krebsartige Erkrankung an Apfelbäumen in Japan (Togashi 1924).

Valsa Massariana De Not., befüllt geschwächte oder durch Frostwirkung geschädigte Zweige von *Sorbus aucuparia* (Neger 1924, S. 152).

Valsa nivea (Hoffm.) Fries, verursacht Krebs und Zweigsterben an Pappeln, in Erscheinungsbild und Befallsbedingungen wie bei *V. sordida*, Virulenz geringer (Schreiner 1931).

Valsa oxystoma Rehm, bekannt als Erreger von Zweigsterben bei Erlen, Befall von abgestorbenen Zweigen ausgehend, zum Teil auch von Käferfraß, Infektion im Herbst, wird epidemisch bei Dürreschädigung (Grundwassersenkung), an *Alnus glutinosa* in Belgien und Norddeutschland (Nijpels 1900, Appel 1904), häufig an *A. viridis* in den Alpen (v. Tubœuf 1893).

Valsa prunastri (Pers.) Fries, soll an *Prunus*-Arten (Pflaume, Aprikose, Pfirsich) ernstlich schädlich werden (Sorauber 1928, S. 669).

Cytospora annularis Reddy, erwähnt als Erreger von Krebs an Zweigen und Ästen von Eschen in Iowa, USA (Reddy 1934).

Cytospora microspora (Corda) Rabenh., erzeugte an Birne krebsartige Rindennekrose (Ferraris 1928).

Cytospora pulcherrima Dearn. et Hansbr., verursachte Befall an brandgeschädigten Bäumen in British Columbia, besonders an Weiden und Bergerlen, *Alnus tenuifolia* Nut. (Dearnell und Hansbrough 1934).

Cytospora prunorum Sacc. et Syd., verursachte Zweigsterben an Pfirsichbäumen in Holland, Infektion nur im Spätsommer bis Winter möglich (Schwarz 1922).

Cytospora spec., eine nicht näher bestimmte Form bewirkte nach der schweren Dürre von 1929 in Ost-Oregon, USA., Krebsschäden an Douglasien (Boycott 1938, S. 268).

Bei der schwierigen Systematik der hierher gehörigen Pilze ist es nicht in allen Fällen sicher, daß es sich tatsächlich um die angegebenen Arten handelt hat; teilweise sind die in Anspruch gerommenen Formen nur ungenügend bekannt und ungenau beschrieben worden, so daß man mitunter bei der Bestimmung auf erhebliche Schwierigkeiten stößt.

Zusammenfassung

1. *Valsa sordida* Nitschke ist ein über die ganze Erde verbreiteter Krankheitserreger an Pappel- und Weidenarten; andere Gehölze werden nur gelegentlich befallen. Gewöhnlich tritt der Pilz nur in seiner als *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fries bekannten Konidienform auf; die Schlauchfrüchte wurden bisher nur selten beobachtet.
2. Bei parasitischem Auftreten bringt der Pilz Zweige, Äste und junge Stämmchen rasch zum Absterben, wobei er die Rinde durchwuchert und tief in den Holzkörper eindringt. Auf der toten, eingetrockneten Rinde werden schwärzliche Pusteln sichtbar; sie gehören zu flachkegelförmigen Stromata vom Valseen-Typus, die einkammerige, lappig verzweigte Pyknidien umschließen; aus der einzigen Mündung treten

gelbgefärbte Sporenmassen in Form langer, spiraling gewundener Ranken aus. Die selten vorkommenden Stromata der Hauptfruchtform umschließen eine Anzahl getrennt mündender Peritheciens. An Stämmen, Ästen oder stärkeren Zweigen können sich krebsartige Befallsherde bilden mit typischen Überwallungszonen um die erkrankten Stellen.

3. *Valsa sordida* lebt im allgemeinen als harmloser Saprophyt. Daß der Pilz an Pappeln auch parasitär werden kann, wurde zuerst in Deutschland von M ünch (1909) beobachtet. Später hat man besonders in den niederschlagsärmeren Gebieten von Nordamerika den *Cytospora*-Krebs als verbreitete und gefährliche Pappelkrankheit erkannt. Neuerdings verursachte der Pilz in einem Pappelzuchtgarten in Sachsen ein Massensterben unter den Pappelmutterstöcken. In Deutschland war er bisher nicht als Krankheitserreger von gewisser wirtschaftlicher Bedeutung bekannt; doch dürfte er bei uns auch im freien Bestand teilweise in ziemlichem Umfange schädlich werden, besonders auch an der forstlich noch wenig beachteten Aspe (*Populus tremula*).
4. Die Isolierung und künstliche Kultur des Pilzes auf den verschiedensten Nährsubstraten bereitet keine Schwierigkeiten; es wird dabei stets nur die Pyknidien-Fruktifikation gebildet.
5. *Valsa sordida* vermag keine grünen Pflanzenteile zu infizieren. Der Befall nimmt stets von Rindenverletzungen oder toten Holzteilen seinen Ausgang. Die parasitäre Ausbreitung wird durch physiologische Schwächezustände des Wirtsorganismus wesentlich begünstigt, nach bisherigen Erfahrungen hauptsächlich durch ungünstige Standortsverhältnisse, Wassermangel, Einwirkung von Bodenfeuer u. a. Die Krankheit dringt meist vom Astwerk aus gegen den Stamm vor. Bei jungen Bäumen verläuft sie meist tödlich, bei älteren Stämmen kann sie durch Abdämmung des Infektionsherdes wieder zum Stillstand kommen. In Pappelgärten dringt der Pilz durch die bei der Entnahme des Vermehrungsholzes entstehenden Wunden in die Mutterstöcke ein. Junge Pappelpflanzen sind wesentlich anfälliger als ältere. Stecklinge werden meist von der oberen Schnittfläche aus befallen; bei der Stecklingsanzucht können bedeutende Ausfälle durch den Pilz entstehen.
6. Ein verminderter Wassergehalt von Rinde und Holz steigert die Krankheitsdisposition. Daher macht der Befall in der Regel in der Zeit der Vegetationsruhe starke Fortschritte; im Frühjahr und Sommer ist häufig ein vorübergehender Stillstand in der Krankheitsausbreitung festzustellen. Schädliche Einwirkungen, durch die die Wasserführung der Gewebe herabgesetzt wird, erzeugen eine krankhafte Dauerdisposition der Pflanzen, da der Pilz luftreicheres Gewebe rascher zu durchwuchern vermag.
7. Der wichtigste Resistenzfaktor ist die Vitalität der Pflanze. Gute Wachstumsbedingungen wirken dem Befall entgegen; dabei ist eine ausreichende Wasserversorgung vor allem bei jüngeren Bäumen sehr wichtig. Verletzungen an Stämmen und Zweitwerk sind möglichst zu vermeiden. Pappelgärten und Baumschulen müssen von erkranktem

Material frei gehalten werden, um die hier sehr gefährliche Infektion der Pflanzen und eine Verschleppung der Krankheit auszuschalten. Chemische Bekämpfungsmittel wurden bisher nicht verwendet. Die einzelnen Pappelarten sind unterschiedlich anfällig; es gibt weitgehend resistente Formen.

8. Andere rindenbewohnende *Valsa*- bzw. *Cytospora*-Arten, die einen parasitären Befall verursachen können, werden, soweit bekannt, durch Trockenheit und andere Einwirkungen, die den Wassergehalt des Wirtsgewebes herabsetzen, ebenfalls in ihrem Auftreten begünstigt.

Schrifttum

- Aderhold, R. Über das Kirschbaumsterben am Rhein, seine Ursachen und seine Behandlung. Arb. biol. Abt. Land- und Forstwirtsch. Gesundheitsamt Berlin **3**, 309—363, 1903.
- Appel, O. Über bestandweises Absterben von Roterlen. Naturw. Z. Land- und Forstwirtsch. **2**, 313—320, 1904.
- Beck, R. Über eine Pilzkrankheit der Weißtanne. Tharandt. forstl. Jb. **50**, 178—194, 1900.
- Boyce, J. S. Forest pathology. New York and London 1938.
- Brefeld, O. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. 9. Heft, Münster i. W. 1891.
- Day, W. R. The watermark disease of the cricket-bat willow. Oxford For. Mem. No. 3. 1924 (Ref. Kew. Bull. 239—240, 1925).
- Dearnell J. u. J. R. Hansbrough. *Cytospora* infection following fire injury in western British Columbia. Canad. Jour. Research **10**, 125—128, 1934.
- Défago, G. Seconde contribution à la connaissance des Valsées von Höhnel. Phytopath. Z. **14**, 103—147, 1944.
- Ferraris, T. Necrosi corticale del Pero. Ricista agricola **24**, 563—564, 1928 (Ref. Rev. Appl. Mycol. **8**, 318, 1929).
- Gilgut, C. J. *Cytospora* canker of spruces. Natl. Shade Tree Conf. Proceed. **12**, 113—118, 1936.
- Grove, W. B. The British species of *Cytospora*. Kew Bull. 1—30, 1923.
- Harris, H. A. Initial studies of American elm diseases in Illinois. Nat. Hist. Survey III, Bull. **20**(1), 1—70, 1932.
- Hemmi, T. On a new canker-disease of *Prunus yedoensis*, *P. Mume* and other species caused by *Valsa japonica* Miyabe et Hemmi sp. n. Jour. Coll. agr. Tohoku Univ. **7**, 257—320, 1916.
- Hubert, E. E. Observations on *Cytospora chrysosperma* in the Northwest. Phytopathology **10**, 442—447, 1920.
- Leonian, L. H. Studies on the *Valsa* apple canker in New Mexico. Phytopathology **11**, 236—243, 1921.
- Long, W. H. An undescribed canker of poplars and willows caused by *Cytospora chrysosperma*. Jour. agr. Research (Washington) **13**, 331—343, 1918.
- Moss, E. H. Observations on two poplar cankers in Ontario. Phytopathology **12**, 425—427, 1922.
- Münch, E. Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzarten. Naturw. Z. Land- und Forstwirtsch. **7**, 54—75, 87—114, 129—160, 1909.
- Münch, E. Forstpflanzenzüchtung. Herausgegeb. v. B. Huber, München 1949.
- Neger, F. W. Die Krankheiten unserer Waldbäume. 2. Aufl. Stuttgart 1924.
- Nijpels, P. Une maladie épidémique de l'aune commune. Bull. Soc. Belge Microsc. **25**, 95, 1900.
- Povah, A. H. W. An attack of poplar canker following fire injury. Phytopathology **11**, 157—165, 1921.

- Reddy, C. S. und Mitarbeiter. Tree diseases of Iowa. Iowa agr. Expt. Sta. Rpt., agr. Research for the year ending June 30, 1934, 78—79, 1934.
- Richmond, B. G. A *Diaporthe* canker on American elm. Science **75**, 110—111, 1932.
- Rolfs, F. M. Winter killing of twigs, cankers and sun scalds of peach trees. Missouri Fruit Exp. Sta. Bull. **17**, 1—102, 1910.
- Ruhland, W. Untersuchungen zu einer Morphologie der stromabildenden Sphaerales. *Hedwigia* (Dresden) **39**, 1—79, 1900.
- Schellenberg, H. C. Die Gipfeldürre der Fichten. Schweiz. Z. Forstwesen Jg. 1907, 54—58, 89—93, 1907.
- Schellenberg, H. C. Das Absterben der Zweige des Pfirsichbaumes (*Valsa cincta*). Verh. schweiz. naturf. Ges. 100. Jahresversammlg. Lugano, 174—175, 1920.
- Schreiner, E. J. Two species of *Valsa* causing disease in *Populus*. Amer. Jour. Bot. **18**, 1—29, 1931.
- Schreiner, E. J. The role of disease in the growing of poplar. Jour. Forestry **29**, 79—82, 1931a.
- Schwarz, M. B. Das Zweigsterben der Ulmen, Trauerweiden und Pfirsichbäume. Dissert. Utrecht 1922.
- Sorauer, P. Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 5. Aufl. Bd. **II**. Teil 1, herausgeg. von O. Appel, Berlin 1928.
- Togashi, K. Some studies on a Japanese apple canker and its causal fungus, *Valsa mali*. Jour. Coll. agr. Hokkaido Univ. **12**, 265—324, 1924.
- Tubeuf, G. v. Mitteilungen über einige Pflanzenkrankheiten. Z. Pflanzenkrankh. und Pflanzenschutz **3**, 140—143, 1893.
- Voglino, P. I nemici del pioppo canadense di Santena. Turin 1910.
- Winter, G. Ascomyceten: Gymnoasceen und Pyrenomyceten. In Rabenhörsts Kryptogamen-Flora. 2. Aufl. Bd. **I**, 2. Abt. Leipzig 1887.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Über den Einfluß der Bodentemperatur auf die Symptomausprägung bei der Blattrollkrankheit der Kartoffeln

Von

Ernst Gäumann

Der Einfluß der Umwelttemperatur auf den Krankheitsverlauf bei pflanzlichen Viren ist schon wiederholt zur Diskussion gestellt worden. Das älteste Beispiel ist wohl die Serehkrankheit des Zuckerröhrrs: wird Pflanzmaterial von serehkranken Individuen aus dem Tiefland genommen und im Gebirge (in etwa 600 m Höhe) ausgepflanzt, so zeigen die aus ihm hervorgehenden Individuen keine Krankheitssymptome; wird von diesen Individuen Pflanzmaterial gewonnen und in das Tiefland zurückgebracht, so ist die erste Generation auch wieder symptomfrei.

Für ein Mosaik von *Armoraceae rusticana* und für einige *Brassica*-Viren haben Pound und Walker (1945) und Pound (1949) festgestellt, daß die Blätter bei der Lufttemperatur von 28° C eine höhere Viruskonzentration aufweisen als bei 16°, und daß in den Blättern von *Armoraceae* der Virusgehalt sinkt bzw. steigt, wenn die Versuchspflanzen von 28 zu 16° bzw. von 16 zu 28° gebracht werden.

Kunkel (1936, 1941) heilte Pfirsichbäume von mehreren Viren und Astern vom Gelbmosaik durch Wärmebehandlung, desgleichen Kassanis (1949) Kartoffelknollen vom Blattrollvirus (dagegen nicht vom X-Virus), wenn er die Knollen mehr als 25 Tage bei 37° C hielt.

Im Anschluß an unsere Versuche über den Einfluß der Bodentemperatur auf den Schorfbefall der Kartoffelknollen (Gäumann und Häfliiger 1949) hatten wir in den Jahren 1945 und 1946 einige Tastversuche über den Einfluß der Bodentemperatur auf das Auftreten der Kartoffelviren durchgeführt, und zwar an Hand von Knollen aus spontan infiziertem Freilandmaterial; wir gewannen dabei den Eindruck, daß die Blattrollkrankheit bei Bodentemperaturen oberhalb 30° C nicht oder nicht mehr deutlich auftrete.

Zur Abklärung dieser Frage stellte uns Herr Kollege George Cokerham von der Scottish Society for Research in plant-breeding in Edinburgh 130 Knollen von Craigs Defiance, die mit Blattroll infiziert waren, und als Kontrolle 130 sicher virusfreie Knollen derselben Sorte zur Verfügung; beide Proben waren insbesondere sicher X-Virus frei. Sie dienten als Ausgangsmaterial für die folgenden drei Versuche.

1. Versuch

Versuchsfrage: Besitzt die Bodentemperatur im Bereich von 9—35°C einen Einfluß auf die Symptomausprägung bei der Blattrollkrankheit der Kartoffeln, wenn sämtliche Versuchspflanzen bei derselben Lufttemperatur stehen?

Der Versuch wurde im Sommer 1948 durchgeführt. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie in der soeben zitierten Arbeit von Gäumann und Häfliger: in 11 Tröge für konstante Bodentemperaturen zwischen 9 und 35°C wurden je 10 Töpfe mit je einer blattrollkranken Kartoffelknolle bepflanzt; ein weiterer Trog, bei dem die Bodentemperatur der Lufttemperatur folgte, diente als Kontrolle. In einem angrenzenden Versuchsräum wurden dieselben Temperaturstufen als Kontrolle mit gesunden Knollen bepflanzt. Düngung wie üblich mit Lonza-Volldünger. Verschieden ist also im Rahmen unseres Versuches bloß die Bodentemperatur, identisch dagegen bei allen Pflanzen die Lufttemperatur.

Wir möchten die technischen Einzelheiten hier nicht wiederholen; wesentlich ist, daß bei diesem einwandfreien Material im Bereich der Bodentemperaturen von 9—35°C kein Einfluß der Bodentemperatur auf das Auftreten der Blattrollkrankheit festgestellt werden konnte: sämtliche virustragenden Versuchspflanzen erkrankten bei sämtlichen Bodentemperaturen, und zwar in ähnlicher Weise, während sämtliche virusfreien Kontrollen gesund blieben.

Wir vermögen nicht zu erklären, warum das Blattrollvirus in unsrern Tastversuchen bei den Bodentemperaturen oberhalb 30°C maskiert wurde und warum bei Craigs Defiance nicht. Ob hier Sortenmerkmale ausschlaggebend sind oder ob (da die Tastversuche mit Freiland-Knollenmaterial durchgeführt wurden) die Mischinfektionen eine Rolle spielen, wird sich erst später erweisen.

Mit dem Versuchsmaterial des Sommers 1948 wurden im Jahre 1949 zwei weitere Versuche durchgeführt.

2. Versuch

Versuchsfrage: Enthalten sämtliche Kartoffelknollen, die im 1. Versuch bei den Bodentemperaturen von 9—35°C gebildet worden waren, genügend Blattrollvirus, um im folgenden Jahr im Nachbau unter identischen Versuchsbedingungen wieder blattrollkranke Individuen entstehen zu lassen?

Die Arbeit von Gäumann und Häfliger hatte gezeigt, daß der Kohlehydrathaushalt der Kartoffelknollen durch die Bodentemperatur erheblich beeinflußt wird. Es war deshalb nicht abwegig zu fragen, ob Ähnliches auch beim N-Stoffwechsel der Fall sein könnte, denn die Wirtspflanzen müssen ja die Eiweißvorstufen für die mengenmäßige Zunahme des Virus aufbauen und dem Virus irgendwie zur Verfügung stellen.

Die im Herbst 1948 geernteten Kartoffelknollen wurden deshalb im Frühjahr 1949 auf dem Areal der Eidgenössischen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon ausgepflanzt. Wir möchten ihr und insbesondere Herrn Dr. R. Salzmann, für ihren Rat und ihre Mithilfe auch hier unsrern Dank wiederholen.

Ergebnis: Sämtliche Knollen von blattrollkranken Mutterpflanzen (mit einer Ausnahme) lieferten, unabhängig von der Bodentemperatur, unter der sie herangewachsen waren, wieder blattrollkranke Individuen; sämtliche Knollen von gesunden Mutterpflanzen lieferten gesunde Individuen. Ein Unterschied in der Heftigkeit der Symptomausprägung (in Abhängigkeit von der Bodentemperatur, unter der die Knollen herangewachsen waren) ließ sich nicht erkennen.

In dem von uns geprüften Temperaturbereich wird somit der Eiweißstoffwechsel der Kartoffelknollen durch die Bodentemperatur zum mindesten im Virussektor nicht entscheidend beeinflußt.

Ein dritter und letzter Versuch wurde auf Anregung von Herrn Kollegen H. M. Quanjer (Wageningen) eingeleitet. Die Knollen gewisser Kartoffelsorten, z. B. von Eigenheimer, zeigen zuweilen die Symptome der „kringerigheid“ (Quanjer 1926; Grieve 1934). Ihre Ätiologie ist unbekannt; könnte es nicht sein, daß irgendwie auf dem Wege über den Boden ein Zusammenhang mit vorangehendem Blattroll besteht? Als Beitrag zur Abklärung dieser Frage wurde der folgende Versuch ausgeführt.

3. Versuch

Versuchsfrage: Entstehen in den Knollen der Kartoffelsorte Eigenheimer die Symptome der „kringerigheid“, wenn sie in Böden, die im Jahre zuvor blattrollkranke Pflanzen getragen hatten, kultiviert werden?

Im Herbst 1948 wurden bei der Ernte bloß die im Laufe der Vegetationszeit neu entstandenen Knollen aus den 120 „blattrollkranken“ und den 120 „gesunden“ Töpfen herausgenommen und für den soeben besprochenen 2. Versuch auf die Seite gelegt. Das Erdreich der Töpfe wurde dagegen unberührt gelassen. In jeden Topf wurde im Frühjahr 1949 eine sicher virusfreie holländische Saatkartoffel der Sorte Eigenheimer gepflanzt; bei sämtlichen Trögen wurde die Temperaturregulierung ausgeschaltet, so daß die Bodentemperatur der Töpfe der Lufttemperatur (meist 19—20°C) folgte. Der Gedanke war also, daß vielleicht bei bestimmten Bodentemperaturen des Vorjahres irgendein pathogenes Agens in das Erdreich hinaus gelangt sein könnte, das nunmehr auf die eingepflanzten Eigenheimer Individuen einwirkt und sie kringelige Knollen bildet.

Ergebnis: Bei den im Herbst 1949 geernteten Eigenheimer Knollen konnte bei keiner der vorjährigen Bodentemperaturen und weder in den damals „blattrollkranken“ noch in den damals „gesunden“ Töpfen irgendwelche Symptome der kringeligkeit festgestellt werden. Es besteht somit im Rahmen unserer Versuchsanordnung kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der kringeligkeit und der vorangehenden Kultur von blattrollkranken Individuen.

Zusammenfassung

1. Im Bereich der Bodentemperaturen von 9—35°C konnte kein Einfluß der Bodentemperatur auf die Stärke der Symptomausprägung bei der Blattrollkrankheit der Kartoffeln festgestellt werden.

2. Unabhängig von der Bodentemperatur, unter der sie herangewachsen sind, liefern die in diesem Temperaturbereich entstandenen Tochterknollen wieder blattrollkranke Tochterpflanzen.
3. Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der kringerrigkeit und der vorangehenden Kultur blattrollkranker Kartoffelpflanzen beobachtet werden.

Zitierte Literatur

- Gäumann, E. und Häfliiger, E., 1949. Der Einfluß der Bodentemperatur auf die Entwicklung und den Schorfbefall der Kartoffelknollen. *Phytopath. Zeitschr.* **16**, 85—105.
- Grieve, B. J., 1934. The spraing disease of potato tubers. *Ann. appl. Biol.* **21**, 233—250.
- Kassanis, B., 1949. Potato tubers freed from leaf-roll virus by heat. *Nature* **164**, 881.
- Kunkel, L. O., 1936. Heat treatments for the cure of yellows and other virus diseases of peach. *Phytopath.* **26**, 809—830.
- Kunkel, L. O., 1941. Heat cure of Aster yellows in periwinkles. *Amer. Journ. Bot.* **28**, 761—769.
- Pound, G. S., 1949. Effect of air temperature on virus concentration and leaf morphology of mosaic-infected horseradish. *Phytopath.* **39**, 18.
- Pound, G. S. and Walker, J. C., 1945. Effect of air temperature on the concentration of certain viruses in cabbage. *Journ. agr. Res.* **71**, 471—485.
- Quanjér, H. M., 1926. Waarnemingen over kringerrigkeit of vuur en over netnecrose van aardappelen. *Tijdschr. over plantenziekten* **32**, 97—128.

*Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Resistenzprüfung, Braunschweig-Gliesmarode*

Über anomale Kieselsäureablagerungen bei Gelbrostinfektion (*Puccinia glumarum*) des Weizens

Von

A. Noll

Mit 2 Abbildungen

A. Einleitung

Vor einigen Jahren wiesen wir gelegentlich anderer mikroskopischer Untersuchungen über Rostinfektion auf abnorme Kieselsäureansammlungen an Infektionsstellen von Weizensorten hin, die entweder sorten- und rostrassenspezifische oder durch sommerliche Außentemperaturen bedingte Resistenz gegen *Puccinia glumarum* aufwiesen. Ferner konnten starke sekundäre Verkieselungen experimentell durch ganz kurzfristige Heißwassertauchung hochanfälliger befallener Sorten hervorgerufen werden, wobei die Sporulation des Pilzes unter Blattfleckenbildung — ohne unmittelbare Hitzebeschädigung von Kontrollpflanzen — zum Stillstand kam. Das mikroskopische Bild der Kieselsäureablagerung ähnelte den bei natürlicher Resistenz auftretenden oben genannten Fällen. Häufig wurden von den Verkieselungsprozessen nicht nur die in Myzelnähe liegenden Wirtszellen, sondern auch die substomatären Bläschen und offenbar auch die Haustorien des Parasiten erfaßt (Noll 1944, Straib und Noll 1944).

In den uns bisher zur Kenntnis gelangten, zum Teil umfangreichen mikroskopischen Untersuchungen über das Infektionsverhalten von *Puccinia glumarum* sowie auch anderer Rostarten (*P. graminis*, *P. triticina*, *P. simplex*, *P. coronata*) und die Reaktionsweise des Wirtes werden pathologische Verkieselungsscheinungen nicht erwähnt. Im Hinblick auf die eigenen Befunde darf allerdings vermutet werden, daß die häufig in der Literatur beschriebenen Verdickungen der Wirtszellwände — wenigstens in manchen Fällen — SiO₂-Auflagerungen dargestellt haben.

Die Anomalie verlangt schon deswegen besondere Beachtung, weil sie unter Umständen die Analyse anderer bei Rostinfektion eintretender zytologischer Veränderungen zu stören vermag. Mit dieser Möglichkeit ist z. B. in Anbetracht des besonderen Verhaltens verkieselter Membranen oder verkieselten Zellumen gegenüber verschiedenen bei zytologischen Untersuchungen zur Verwendung kommenden Farbstoffen oder Reagenzien durchaus zu rechnen. Solche und andere Erwägungen gaben uns genügend Veranlassung, das Kieselsäureproblem bei Gelrostinfektion an Hand eines erweiterten Beobachtungsmaterials noch eingehender als bisher zu verfolgen, worüber nachstehend berichtet wird.

B. Mikroskopisches Bild der pathologischen SiO₂-Ablagerungen

Die als Folge von Gelbrostinfektion im infizierten Blattgewebe auftretende anomale Verkieselung zeigt keine äußere spezifische Manifestation und kann nur mikroskopisch und auch dann nur einwandfrei nach besonderer Präparation der Gewebe, auf die wir weiter unten noch eingehen, nachgewiesen werden. Die hierbei zum Vorschein kommende SiO₂-Ablagerung an Zellwänden und im Zellinnern ist farblos, glänzend und im Zelllumen etwas granuliert. — Den Zellwänden wird die Substanz offenbar aufgelagert, wodurch jene mehr oder weniger stark verdickt erscheinen. Zuweilen werden die von benachbarten Zellwänden gebildeten Winkel für die Ablagerung bevorzugt, wodurch das Gewebe kollenchymartiges Aussehen gewinnen kann. Mitunter scheint Kieselsäure pathologisch auch interzellular aufzutreten. — Erfaßt werden können die verschiedensten Zell- und Gewebearten, soweit sie im Bereich der Rostmyzelien liegen. Ausgangspunkt sind zumeist die Spaltöffnungsapparate, so daß in verkieselten Gewebekomplexen mindestens ein solches Organ vorgefunden zu werden pflegt. Sehr häufig werden auch nur abnorm verkieselte Schließzellen angetroffen, deren Außenwände überdies besonders stark verdickt erscheinen. — Größere Flächen verkieselten Gewebe kommen zumeist durch Zusammenfließen kleinerer um die Stomata entstehender Einzelherde, deren Durchmesser z. B. bei „Kanred“-Weizen (Freiland, Rostrasse 1) etwa bis $\frac{2}{3}$ mm gemessen wurde, zustande. Im Zentrum solcher Einzelherde ist die Ablagerung am stärksten und nimmt nach der Peripherie ab. — Im Zellinnern kann SiO₂ nicht selten gemeinsam mit „Wundgummi“ (vgl. Noll 1944) angehäuft werden. Besonders umfangreiche Verkieselung des Mesophylls wurde bei sogenannter Sommerresistenz gegen Gelbrost vorgefunden. In einem Falle erwiesen sich die Innenflächen der unterhalb der Schließzellen liegenden „Atemhöhlen“ als bevorzugter Ort der Entstehung. — Im allgemeinen sind die anomalen Verkieselungen bei Gewächshauskeimpflanzen wesentlich schwächer als bei Freilandpflanzen, worauf wir später noch näher zu sprechen kommen. Auf die vor einigen Jahren gemachten Beobachtungen über die Verkieselung der substomatären Bläschen und der Haustorien von *P. glumarum* innerhalb der in gleicher Weise betroffenen Wirts-Zellkomplexe wurde bereits eingangs nochmals hingewiesen.

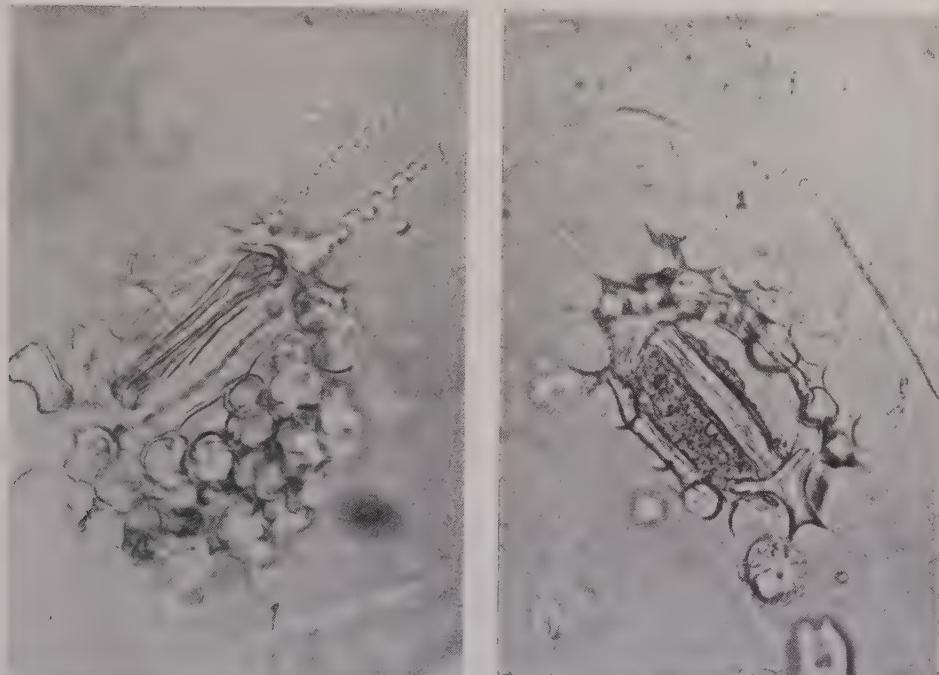
C. Nachweis pathologischer Verkieselungen

Eine in Anlehnung an ältere Verfahren entwickelte Nachweismethode für SiO₂ oder Silikate im pflanzlichen Gewebe fand schon anlässlich früherer zytologischer Rostuntersuchungen Erwähnung (Straib und Noll 1944) und wird hier lediglich wiederholt. Bei sorgfältiger Handhabung hat sie gegenüber anderen Methoden den Vorteil der Unversehrtheit der SiO₂-Strukturen des Blattes, woraus sich Beobachtungsmöglichkeiten der Lageverhältnisse der pathologischen Bildungen ergeben:

Die zu untersuchenden Blätter werden auf einem Objektträger aus Quarzglas mit einem Tropfen konzentrierter Salpetersäure bis zur Erweichung der Gewebe, völliger Verdampfung der Säure und festem Haften des Objektes auf der Unterlage vorsichtig erhitzt. Besonders ist dafür Sorge zu tragen, daß die unterhalb des Blattes sich entwickelnden Gasblasen ausgetrieben werden und somit das Blatt tatsächlich festklebt. Dies kann durch Andrücken

oder kräftiges Anblasen der Oberfläche erreicht werden. Daraufhin erfolgt über einem Bunsenbrenner gründliche Veraschung, sodann behutsame Bedeckung des Rückstandes mit einem Deckgläschen, vorsichtiges Anbringen eines Tropfens 50 prozent. Salzsäure an den Deckglasrand zwecks Auflösung der Metalloxyde usw. und anschließend Mikroskopie. Die nach HCl-Einwirkung verbleibenden Skelette verschwinden sofort in Flußsäure und erweisen sich infolgedessen als SiO_2 oder als Silikate. Die Anwendung von HF erfordert je nachdem Schutz oder Ersatz der Glasteile der mikroskopischen Vorrichtungen durch Marienglas (Krist. CaSO_4 -Plättchen).

Falls die topographischen Verhältnisse der pathologischen SiO_2 -Komplexe nicht berücksichtigt zu werden brauchen, kann auch in der Weise vorgegangen werden, daß die Blätter durch Kochen in konzentrierter Salpetersäure aufgelöst und die Rückstände anschließend



Kieselskelette abnorm verkieselten Infektionsstellen einer *Puccinia glumarum*-resistenten Weizensorte („Rieti barbu“, Gelbrostrasse 1, Freiland). Von den feineren Skeletten der normal verkieselten Epidermis heben sich die kräftigen pathologisch verkieselten Zellkomplexe, die einen Spaltöffnungsapparat nebst Nachbargewebe umfassen, deutlich ab. Skelette gewonnen durch Behandlung der Blätter mit konz. Salpetersäure. Vergr. 180 fach

abzentrifugiert werden. An Stelle von Salpetersäure kann auch (nach Miliarakis 1884) Chromsäure — allein oder anschließend konzentrierte Schwefelsäure — angewandt werden.

Das Sediment besteht aus einem Gemisch von schwachen Skeletten der normal verkieselten Zellen oder auch ganzer Zellkomplexe (Epidermis) und auffällig kräftigen Skeletten von mehr oder weniger großen Zellverbänden, den anomal verkieselten Gewebeteilen. Abb. 1 u. 2 zeigen nach soeben beschriebenem Verfahren gewonnene Zentrifugate. — Auch dieses Nachweisverfahren wurde in obengenannter Veröffentlichung bereits beschrieben. —

Die in Verbindung mit Zentrifugieren auszuführenden Methoden eignen sich besonders zur Auffindung sehr verstreut liegender kleinerer SiO_2 -Arealen.

Im folgenden wird noch eine weitere von uns erprobte Nachweismethode näher beschrieben, deren Brauchbarkeit sich aus einem Vergleich mit dem

obengenannten Veraschungsverfahren ergab, und die in manchen Fällen den bisher beschriebenen Verfahren vorzuziehen ist:

Die zu untersuchenden Blätter werden etwa 10 Minuten in einer konzentrierten wäßrigen Lösung von Chloralhydrat gekocht, ohne weiteres auf Objekträger ausgebreitet und makroskopisch gegen dunklen Hintergrund im seitlich einfallenden Licht betrachtet. In dem sonst glasartig durchsichtigen Objekt zeigen sich jetzt an der Infektionsstelle mehr oder weniger umfangreiche Trübung, die zunächst aber nur als ein Verdachtssymptom für das Auftreten abnormaler SiO_2 -Ansammlungen anzusprechen sind. Sichere Schlüsse sind aus dem Phänomen noch nicht zu ziehen, da an der Trübung der häufig zusammen mit Kieselsäure vorkommende „Wundgummus“ (Noll 1944 a) beteiligt sein kann. Genaueres ist erst dann zu erfahren, wenn die Blätter mit naszierendem Chlor, das letztgenannten Stoff zerstört, vorbehandelt werden. Zu diesem Zwecke gelangen die Objekte für einige Stunden in konz. Salzsäure unter Hinzufügung einiger Stückchen chlorsauren Kaliums (Noll 1943). Für die daraufhin noch verbleibenden Trübungseffekte dürften ausschließlich abnorme SiO_2 -Anhäufungen verantwortlich zu machen sein, da die trüben Stellen topographisch und strukturell den beim Veraschungsverfahren sichtbar werdenden SiO_2 -Gerüsten mikroskopisch vollkommen entsprechen.

Im übrigen bleiben vom ganzen Blatt nach weiterer Behandlung mit etwa 70 Prozent Schewfelsäure fast nur noch die in Frage stehenden SiO_2 -Komplexe zurück, die außerdem jetzt mikroskopisch besonders klar hervortreten.

D. Verhalten der SiO_2 -Ablagerungen gegenüber verschiedenen Chemikalien

Die folgenden Beobachtungen sind lediglich Nebenergebnisse der Versuche zum Nachweis anomaler Verkieselungen, zu ihrer optischen Heraushebung aus dem Blattgewebe oder zu ihrer Isolierung und sind nur als Nebenergebnisse zu bewerten. Sie mögen daher zwar in gewissem Grade zur Charakterisierung der Anomalie beitragen, erheben aber keinen Anspruch auf eine vollständige Analyse. — Insbesondere auch muß die Frage offenbleiben, ob die auf normalem und auf pathologischem Wege entstandenen SiO_2 -Verbindungen chemisch identisch sind oder nicht, da keine genaueren vergleichenden Analysen beider Substanzen durchgeführt wurden. — Einiges über das chemische Verhalten der SiO_2 -Ablagerungen war schon aus den vorangegangenen Ausführungen zu ersehen.

Salzsäure oder Salpetersäure greifen die Ablagerungen trotz längerer Behandlung der Blätter nicht an. Ebenso verhält sich Chromsäure, die nur alle übrigen Blattstrukturen vollkommen zerstört. Flüssigsäure löst die Gebilde rasch auf. Heiße Kalilauge, besonders konzentrierte, wirkt ebenfalls ziemlich schnell, die kalte konzentrierte Lösung jedoch erst etwa nach 4 Tagen. Eau de Javelle (KClO) wirkt anscheinend nur träge und lediglich auf die schwach verkieselten Randpartien der pathologischen SiO_2 -Komplexe ein. Konzentrierte Ammoniaklösung greift meist erst nach mehrtägiger Einwirkung an und korrodiert dann ebenfalls vor allem die peripheren Partien. — Von den Löslichkeitsverhältnissen gegenüber den genannten Chemikalien kann man sich am besten durch vergleichende mikroskopische Beobachtung der Blätter in Flächenaufsicht vor und nach der

Behandlung überzeugen, und zwar, wenn die Objekte vor der Prozedur mit Chloralhydrat aufgeheilt werden¹⁾.

Die mit konzentrierter HCl ausgewaschenen Veraschungsrückstände (vgl. S. 484) sind mit Ausnahme von HF widerstandsfähig gegen die verschiedensten Säuren. Ähnlich verhalten sich die durch Kochen der Blätter in Salpetersäure (vgl. S. 485) isolierten Skelette, nur bleiben hier nach Einwirkung von Flußsäure zarte, in etwa 70 Prozent. Schwefelsäure sich auflösende Innenlamellen übrig, die offenbar bis dahin durch die SiO₂-Auflagerungen vor der zerstörenden Wirkung der Salpetersäure geschützt waren und allem Anschein nach die Zellulosemembranen darstellen. — Konzentrierte Kalilauge verwandelt die nach dem Veraschungsverfahren oder nach dem Salpetersäureverfahren gewonnenen Skelette in eine flockige, mikroskopisch zum großen Teil aus sechseckigen Plättchen bestehende Masse. — Da diese Kristalle an Kristallformen des Magnesiumhydroxyds erinnern, wäre vielleicht in Erwägung zu ziehen, ob Magnesium einen Bestandteil der hier vorliegenden pathologischen SiO₂-Ablagerungen — etwa als Silikat — darstellt. Genauerer Aufschluß vermag selbstverständlich erst die exakte chemische Analyse zu bringen.

E. Auf anomale SiO₂-Anhäufungen untersuchte Fälle

Anomale SiO₂-Ablagerungen in Weizenblättern im Bereich der Myzelien von *Puccinia glumarum* wurden in folgenden Fällen aufgefunden:

I. Gewächshauskeimpflanzen

1. Sorte „Rouge prolifique barbue“, Gelbrostrasse 23, hochresistant.
2. Sommerweizen „Heines Kolben“, Rasse 2, hochresistant.
3. „Spaldings prolific“, Rasse 7, hochresistant.
4. Unbekannte Weizensorten mit nicht bestimmter Rostrasse, hochresistant.

II. Freilandpflanzen, meistens ältere Entwicklungsstadien.

Infiziert mit Gelbrostrasse 1

1. „Riéti barbue“, hochresistant.
2. „Breustedt's Extra Dickkopf“, resistent.
3. „Kanred“, hochresistant.
4. Sommerweizen „Heines Kolben“, erblich blattnekrotische Linie, resistent.
5. Eine größere Anzahl von Sorten, deren Blätter, vorwiegend die hochinserierten, außerordentlich zahlreiche winzige chlorotische, im Zentrum oft bräunliche Tüpfel aufwiesen, welche besonders deutlich im durchfallenden Licht hervortraten. Sie ließen sich nach mikroskopischer Untersuchung auf fehlgeschlagene Gelbrostinfektionen jüngster Stadien zurückführen, also auf eine Resistenzerscheinung. Der großen Zahl jener Tüpfel entsprachen mengenmäßig und topographisch die verkieselten Komplexe. Bei manchen dieser Sorten wurden auf 1 cm² bis etwa 170 solcher nachweislich mit abortiven Einzelinfektionen in ursächlichem Zusammenhang stehender Komplexe gezählt. — Auffällig war hier ferner noch die besonders häufige schon mehrfach erwähnte Verkieselung der substomatären Bläschen des Parasiten innerhalb der abnorm verkieselten Zellkomplexe des Wirtes.

¹⁾ Die günstigsten Beobachtungsmöglichkeiten boten solche vom Freiland stammende resistente Sorten, deren Infektionsstellen relativ wenig „Wundgummi“-Ansammlungen, die die Analyse beeinträchtigen, aufweisen, z. B. die Sorte „Riéti barbu“ mit Gelbrostrasse 1.

6. Mehrere Weizensorten, auf denen sich der Gelbrost zunächst mehr oder weniger stark ausgebreitet hatte, dann aber — vorwiegend durch die höheren Sommertemperaturen bedingt — abstorb. (Zur Frage der „Sommerresistenz“ vgl. Straib 1939). Diese Sorten waren durch besonders umfangreiche SiO_2 -Ablagerungen im Mesophyll ausgezeichnet (vgl. S. 484).

III. Gewächshauskeimpflanzen anfälliger Sorten,
die einige Zeit nach Impfung mit verschiedenen Gelbrostrassen ganz kurzfristig relativ hohen Temperaturen (z. B. 40°C , 10 Min. oder 50°C , 5 Sekunden) ausgesetzt worden waren, wobei sich auf den Blättern im Bereich der Myzelien einige Zeit nach Behandlung chlorotische bis nekrotische Flecken zeigten und die Pilzentwicklung stockte. Auf diese Vorgänge wurde schon in einer früheren Veröffentlichung (Straib und Noll 1944) und in der Einleitung nochmals hingewiesen.

Dagegen waren abnorme Verkieselungen in folgenden Fällen nicht nachweisbar:

I. Gewächshauskeimpflanzen, Primärblätter

1. Nicht beimpfte normale Blätter verschiedener Weizensorten. 2. Beimpfte, hochgradig befallene, nicht abgestorbene Blätter verschiedener Sorten. 3. Wie Fall 2, jedoch im Alter mitsamt dem Pilz zugrunde gegangene Blätter. 4. Gegen Gersten-Gelbrostrasse 23 hochresistente Weizensorte „Rouge prolifique barbue“ (8 Tage nach Impfung). 5. Gegen Rasse 1 oder 9 „immune“ Sorte „Spaldings prolific“ (6 Tage nach Impfung). 6. Dieselbe gegen Rasse 7 resistente Sorte. 7. Die gegen eine nicht mehr bekannte Gelbrostrasse „immune“ Sorte „Chinese 166“ (8 Tage nach Impfung).

II. Freilandpflanzen, ältere Entwicklungsstadien

1. Nicht befallene, fleckenfreie Sorten. Beim Veraschungsverfahren — vergl. S. 484 ff. — blieben von den Blättern lediglich wenige Reste, darunter einige Schließzellen und andere Epidermisteile als SiO_2 -Skelette zurück. 2. Stark von Rasse 1 befallene Sorten: In einem Falle kamen auf 1 cm^2 Blattfläche nur etwa 3 als anomal anzusprechende Stomata. 3. Nicht befallene, jedoch infolge natürlichen Absterbens durch Vergilbung der Blattränder ausgezeichnete Weizensorten.

Zusammenfassend ergab sich also folgendes:

1. Der Verkieselungsgrad nicht befallener normaler Blätter bewegte sich im Rahmen der bekannten natürlichen SiO_2 -Einlagerung in Zellwände von Gramineen und war bei Freilandpflanzen offensichtlich und erwartungsgemäß höher als bei Gewächshauspflanzen. Im Vergleich zu der durch *Puccinia glumarum*-Infektion an Infektionsstellen sekundär entstehenden SiO_2 -Ablagerung war die natürliche SiO_2 -Inkrustierung nur als gering anzusehen, besonders in bezug auf das Mesophyll. Auch trat die normale Einlagerung nicht nesterweise wie bei pathologischer Bildungsweise auf, sondern erstreckte sich über das ganze betreffende Gewebe.

2. In keinem Falle, weder bei Gewächshauspflanzen noch bei Freilandpflanzen, lag in anfälligen Sorten unter den optimalen Entwicklungsbedingungen der Parasitose im Bereich der Myzelien eine sekundäre abnorme Verkieselung des Wirtsgewebes vor. — Auch nach Erschöpfung und Absterben stark befallener alternder Primärblätter (Gewächshauskeimpflanzen) erfolgte keine Anreicherung der Substanz im infizierten Gewebe. — Erst unter dem Einfluß von Sommertemperaturen oder nach Hitzebehandlung wurden, wie schon an anderer Stelle gesagt, in stark befallenen Organen regelmäßig große Mengen von Kieselsäure in den verpilzten Teilen nachträglich abgelagert.

3. In Bestätigung früherer Beobachtungen führte sorten- und rostrassen-spezifische Resistenz (absolute Resistenz) ebenfalls zu abnormalen Kieselsäure-anhäufungen im Infektionsbereich. Ergänzend hierzu ist noch festzustellen, daß Freilandpflanzen im allgemeinen weit mehr zu der Anomalie neigten als Gewächshauspflanzen und bei letzteren in einigen Fällen sogar eine solche überhaupt nicht mit Sicherheit nachweisbar war.

4. Das natürliche Absterben von Blättern zog keine abnorme SiO_2 -Anreicherung in den vergilbten Teilen nach sich.

Pathologische SiO_2 -Anhäufungen sind nun aber keinesfalls spezifische Symptome eines gestörten Gelbrostparasitismus, sondern weit allgemeinere, sich auch auf Infektion anderer Getreidearten durch systematisch entfernt stehende Parasiten und darüber hinaus auf rein physiologisch bedingte Gewebeerkrankungen erstreckende Erscheinungen. So wurde abnormes Auftreten von Kieselsäure noch beobachtet bei *Helminthosporium gramineum*-Infektion einer Gersten-sorte, und zwar bemerkenswerterweise wieder bei einer gewissen Resistenz, ferner in Blattflecken einer nicht rostinfizierten erblich nekrotischen Linie der schon erwähnten Sommerweizensorte „Heines Kolben“, außerdem in so-genannten Dörrflecken (Manganmangel) einer Hafer-sorte und schließlich sogar — wie bereits gelegentlich anderer zytologischer Untersuchungen berichtet (Noll 1944 b) — in der Umgebung künstlich geschaffener Wundflächen von Weizen-blättern. Einzureihen sind hier noch die aus der Literatur bekanntgewordenen Fälle nicht infektionsgebundener Verkieselungen (s. auch weiter unten).

F. Bedeutung der pathologischen Verkieselung für die Gelbrostresistenz

Man mag vielleicht vermuten, daß die nach Gelbrostinfektion im Myzel-bereich sich einstellenden anomalen Kieselsäureablagerungen eine aktive Schutzmaßnahme des Wirtes gegenüber dem Pilz darstellen. Im Hinblick auf die erwähnten, nach Hyperthermie oder nach Einwirkung sommerlicher Freilandtemperaturen folgenden SiO_2 -Anreicherungen in hochanfälligen, stark befallenen Blättern dürfte jedoch diese Vermutung kaum zutreffen. Denn durch solche Temperatureinflüsse wird nach unseren früheren Untersuchungen allem Anschein nach der Pilz im Wirtsgewebe abgetötet (Straib und Noll 1944¹). — Siehe auch S. 483). Es wäre nun aber nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse über den Gelbrostparasitismus nicht ganz zu

¹⁾ Die Möglichkeit eines unmittelbaren Hitzetodes des Rostpilzes im Wirtsgewebe wird noch wahrscheinlicher in Anbetracht der auffälligen Parallelität folgender 3 Erscheinungen,

verstehen, weshalb die Wirtszelle auf den abgestorbenen Parasiten eher durch Bildung von SiO_2 -Barrieren aktiv reagieren sollte als auf den lebenden Erreger. — Gegen eine derartige Schutzfunktion der Substanz sprechen ferner in gewisser Weise die den oben erwähnten rostparasitären Fällen ähnelnden übermäßigen SiO_2 -Ansammlungen in rein physiologisch bedingten Blattflecken oder an Wundflächen. Vielleicht dürfen auch die bereits von Netolitzki, 1912, gemachten Beobachtungen in diesem Zusammenhang genannt werden, wonach anomale SiO_2 -Ablagerungen infolge krankhafter, offenbar nichtinfektiöser Zellzustände an Stomata von Vertretern solcher Pflanzengattungen auftraten, die schon normalerweise Kieselsäure führen.

Solchen Tatsachen gegenüber werden wir wohl kaum mit einer aktiven Schutzfunktion der Kieselsäure bei Gelbrostresistenz einer Weizensorte rechnen können. Vielmehr dürfte es sich — wie auch in den übrigen genannten Fällen — um den primitiveren Vorgang einer automatischen Anreicherung der Substanz im Gewebe handeln, und zwar als Folge irgendwelcher anderer pathologischer, unspezifischen Anlässen zugrunde liegender Zellzustände. Die Ablagerung der Substanz im infizierten Gewebe gelbrostresistenter Weizensorten würde also wohl nur eine immunologisch bedeutungslose Sekundärerscheinung darstellen, von der zufällig auch die substomatären Bläschen und wahrscheinlich auch die Haustorien des (durch andere Umstände bereits primär in seiner Entwicklung gehemmten) Rostpilzes miterfaßt werden können.

G. Zusammenfassung

Die schon gelegentlich früherer zytologischer Untersuchungen über die Gelbrostresistenz (*Puccinia glumarum*) erwähnte abnorme Anhäufung von Kieselsäure an Infektionsstellen von Blättern resistenter Weizensorten wurde an Hand größerer Beobachtungsmaterials eingehender untersucht.

Die Anhäufung trat bei Gewächshauspflanzen sehr häufig auf, bei Freilandpflanzen regelmäßig, und zwar sowohl in Fällen sorten- und rassenspezifischer Resistenz als auch in Fällen nachträglicher klimatischer oder experimenteller thermischer Störungen des Rostparasitismus. Die Anhäufung fehlte sowohl bei ungehemmter Pilzentwicklung als auch bei völliger Abwesenheit des Pilzes.

Das mikroskopische Bild der Erscheinung wurde genauer beschrieben.

Über die Löslichkeit der Kieselsäureanhäufungen in verschiedenen Chemikalien wurden einige Angaben gemacht.

die nach unseren neuesten Beobachtungen (an Gerste mit *P. simplex*) bei 40° C und stufenweisiger Einwirkungszeit von 1—5 Minuten zutage trat:

1. Grad der Keimungshemmung auf Wasser-Agar der vor (!) Aussaat auf dem künstlichen Substrat erhitzten Uredosporen.
2. Grad der Infektionshemmung des vor Verimpfung auf Blättern erhitzten Sporenmaterials.
3. Grad der Blattfleckbildung und Grad der Sporulationshemmung des Pilzes auf beimpften, nach Myzelentwicklung erhitzten Blättern einer ursprünglich anfälligen Gerstensorte.

Erhitzung der Blätter vor Impfung hatte unter gegebenen Temperaturbedingungen keinen Einfluß auf den Krankheitsverlauf; desgleichen blieben nicht beimpfte, erhitzte Kontrollpflanzen unverändert.

Nähere Ausführungen hierzu sollen einer eventuellen besonderen Veröffentlichung vorbehalten bleiben.

Bei der SiO₂-Anhäufung handelt es sich um eine unspezifische, d. h. auch bei Resistenz gegenüber anderen pilzlichen Parasiten und darüber hinaus bei ausschließlich physiologisch bedingten Blatterkrankungen — wie auch schon früher bei Trauma — zu beobachtende Erscheinung. Hinsichtlich der Gelbrostresistenz stellt sie vermutlich eine sekundäre Begleiterscheinung anderer örtlicher zytologischer Veränderungen dar, der keine immunologisch-funktionelle Bedeutung beizumessen ist.

Literatur

- 1 Miliarakis, S., Die Verkieselung. Diss. Würzburg 1884.
- 2 Noll, A., Über eine durch Gelbrostinfektion in resistenten Getreidesorten und durch andere Ursachen hervorgerufene wundgummiaartige Substanz. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. 104, 448—459, 1943.
- 3 Noll, A., Untersuchungen über Wundreaktionen des Weizenblattes und ihre Beziehungen zur Rostinfektion. Zentralbl. f. Bakt. II., Bd. 106, 277—285, 1944.
- 4 Netolitzky, F., Kieselsäuremembranen der Dikotylenblätter. Österr. Bot. Zeitschr. 62, 1912, 353—466.
- 5 Straib, W. und Noll, A., Untersuchungen über den Einfluß der Hitze auf den Rostparasitismus. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. 106, 257—277, 1944.
- 6 Straib, W., Der Einfluß des Entwicklungsstadiums und der Temperatur auf das Gelrostverhalten des Weizens. Phytopath. Zeitschr. Bd. XII, H. 2, 113—168, 1939.

Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig-Gliesmarode

Fortgeführte serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen

Von

R. Bercks

Einleitung

In einer früheren Mitteilung (3) ist für das X-Virus bei der Kartoffelsorte Erstling gezeigt worden, daß der serologische Nachweis von Sekundärerkrankungen, das heißt solchen, die von der Knolle ausgehen, im Laub der Pflanzen weitgehend möglich ist. Die Durchdringung des Virus ließ sich im Jahre 1948, sowohl bei Freiland- als auch Gewächshauskulturen verschiedenster Entwicklungsstadien, mit Hilfe der Blättchenmethode gut verfolgen. Es gelang dagegen nicht, bei der nicht verseuchten Sorte Flava den Nachweis einer Primärerkrankung auf serologischem Wege zu führen und ihren Verlauf zu beobachten. Zwar waren mit dem seit vielen Jahren auf Tabak gezogenen Köhlerischen Stamm Cs 35 die verschiedensten Infektionsversuche durchgeführt worden, sie verliefen aber praktisch negativ. Das Virus war nur gelegentlich in einem oder dem anderen Blatt des infizierten Triebes, das heißt des Triebes, der

die beimpften Blätter trug, nachzuweisen. Aus diesen Gründen wurden weitere Versuche angestellt, über die im folgenden zu berichten ist. Daran anschließend werden Untersuchungen mitgeteilt, die ebenfalls ihren Ursprung in den Versuchen des Jahres 1948 haben und sich einerseits mit dem Nachweis des Virus bei Pflanzen, die unter verschiedenen Temperaturen gewachsen sind, zum anderen mit dem Nachweis während der Abreife befassen.

Methodisches

Die Bonitierung der Versuche führten wir, wie früher, nach der Blättchenmethode (7) durch, die sich auch weiterhin in mehr als 15 000 Einzelprüfungen bewährte¹⁾. Zur Impfung diente Preßsaft von Pflanzen der als X-Träger bekannten Sorte Erstling sowie von einzelnen X-kranken Pflanzen der Sorten Flava und Sabina. Infiziert wurden im Freiland und zum Teil ergänzend auch im Gewächshaus neun verschiedene Sorten und zwar jeweils an drei Blättern eines oder zweier Triebe²⁾. Jede Infektion wurde in sechsfacher Wiederholung durchgeführt. Wir begannen die Untersuchungen auf so breiter Basis, um auf jeden Fall eine entscheidende Aussage machen zu können. Bei der Vielzahl der Sorten war es allerdings aus technischen Gründen nicht möglich, die verschiedensten Entwicklungsstadien zu infizieren und den Infektionsverlauf dann im einzelnen zu verfolgen. Wir mußten uns vielmehr vorläufig darauf beschränken, zwei oder drei Stadien für die Impfung auszuwählen und in mehr oder weniger großen Abständen die Ausbreitung des Virus zu prüfen.

Experimenteller Teil

I. Prüfung von Primärinfektionen

1. Flava

Die Infektionen wurden an Freiland- und Gewächshauskulturen durchgeführt, und zwar bei den Freilandpflanzen in drei, bei den Gewächshauspflanzen in zwei verschiedenen Entwicklungsstadien. Die jeweils letzte Impfserie fiel sowohl bei dieser als auch bei allen anderen Sorten für das hier verfolgte Problem aus, da die Infektionen in keinem Falle angingen. Über diese Erscheinung wie auch über teilweise verschiedenes Verhalten des Impfmaterials wird in einer gesonderten Veröffentlichung berichtet; eine vorläufige Mitteilung (2) darüber ist bereits erschienen.

Im Freiland waren die Knollen am 29. April 1949 ausgepflanzt worden. Am 18. Mai hatten die Triebe, an denen sich die zu infizierenden Blätter befanden, eine Höhe von 3—6 cm erreicht, während die Blätter selbst 4—8 cm groß waren. Wir impften an diesem Tage 6 Pflanzen mit Preßsaft von X-kranken Blättern derselben Sorte (im folgenden auch als „Flava-X“ bezeichnet). Die ersten serologischen Prüfungen, und zwar von beimpften

¹⁾ Bonitierung von 0 bis + + + +, 0 = Spur.

²⁾ Der größte Teil des zuvor auf seinen Gesundheitszustand getesteten Materials wurde mir von den Herren Ob.-Reg.-Rat Dr. Köhler und Dr. Bode, Celle, zur Verfügung gestellt, wofür ihnen auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

Blättern, die inzwischen 8,5—15 cm groß geworden waren, nahmen wir am 2. Juni vor. In allen Fällen war das Virus gut nachzuweisen. Die Prüfung von 27 nicht beimpften Blättern, die sich oberhalb der beimpften am selben Trieb befanden — zum Teil handelte es sich sogar um die Spitzenblätter — ergab am folgenden Tage (3. Juni) bei 25 Proben ebenfalls ein positives Ergebnis. Die daraufhin am 17. Juni durchgeführte Untersuchung einer ganzen Pflanze zeigte folgendes Bild (Tabelle 1): Der infizierte Trieb, inzwischen

Tabelle 1
Prüfung der Flava-Freilandpflanze Nr. 1 am 7. Juni 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb				
	I i ²⁾ 22 cm	II 16 cm	III 12 cm	IV 15 cm	V 19 cm
1	0	0	0	0	0
2	+++	0	0	0	0
3	++	0	0	0	0
4	0	0	0	++/+++	0
5	+/++	0	0	++/+++	0
6	++	0	+	++/+++	0
7	++/+++	0	++	+++	0
8	+++	0	++	+++/++++	++/+++
9	0/+	0	++		++/+++
10		0			++/+++
11		0			+/++

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt

²⁾ i = infizierter Trieb

auf 22 cm herangewachsen, war mit Ausnahme des untersten Blattes ganz durchsetzt, ein zweiter Trieb war zumindest noch nicht so weit infiziert, daß sich das Virus serologisch fassen ließ. Bei den übrigen Trieben gaben jeweils nur die oberen Blätter positive Reaktionen.

Als Beispiel dafür, daß der Krankheitsstoff nach einiger Zeit in der ganzen Pflanze zu finden ist, sei eine Gewächshauspflanze aufgeführt, die zur Zeit der Infektion (am 30. Mai) etwa 30 cm groß war. Am 11. Juni wurden je ein beimpftes und am 24. Juni je drei nichtbeimpfte Blätter der beiden infizierten Triebe geprüft und als positiv befunden. Die Gesamtprüfung am 25. Juli ergab für 17 Triebe sehr unterschiedlicher Größe bei 81 Proben nur 3 negative (Tabelle 2).

Ein weiteres Beispiel mag zeigen, daß nicht nur der Nachweis des „Flava-X“, das vielleicht als besonders spezifisch für diese Sorte angesehen werden könnte, ohne weiteres gelang, sondern ebenso auch die Infektionen mit Preßsaft von X-kranken Sabinapflanzen (= „Sabina-X“). Die Freilandpflanze Nr. 7 war wie die zuerst erwähnte Nr. 1 am 18. Mai, allerdings mit „Sabina-X“, beimpft und die erste Prüfung ebenfalls am 2. und 3. Juni vor-

Tabelle 2
Prüfung der Flava-Gewächshauspflanze Nr. 32 am 25. Juli 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb					
	I 48 cm	II 45 cm	III 48 cm	IV 38 cm	V 36 cm	VI 37 cm
1	0	++/+++	++/+++	0		++
2	0	++/+++	+++		++	
3	+++	++/+++	+++	++/+++		0
4	++/+++	++	+++/++++	++/+++	++	
5	+++	++	+++/++++	+++		++
6	+++/++++	+++/++++	++/+++	++/+++	+++/++++	+++/++++
7	+++	+++/++++	++/+++		+/++	
8	+++		++/+++		++/+++	
9	+++					

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb					
	VII 40 cm	VIII 41 cm	IX 34 cm	X i ²⁾ 57 cm	XI 24 cm	XII 28 cm
1	+/++	+++	+++	++/+++	4/++	
2	+++	+++	+++/++++	+++	+++	++
3	++/+++	+++	+++/++++	+++/++++	++/+++	
4	++/+++	++/+++	+++/++++	++/+++	+++	+++/++++
5	+++	+++	+++/++++	++/+++		+++/++++
6	+++/++++	+++/++++	++/+++			

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb					
	XIII i ²⁾ 50 cm	XIV 30 cm	XV 30 cm	XVI 13 cm	XVII 7 cm	
1	++/+++					
2	+++/++++	+++	++/+++			
3	++/+++		+++		++/+++	
4	+++	+++	++			
5		++/+++	++/+++			

¹⁾ Nr. = unterstes Blatt²⁾ i = infizierter Trieb

genommen worden. Die Untersuchung der ganzen Pflanze führten wir bereits am 15. Juni durch (Tabelle 3). Sie ergab auch für die nichtinfizierten Triebe eine weitgehende, zum Teil vollkommene Durchdringung. Bei den Blättern, in denen das Virus nicht zu finden war, handelte es sich wie bei der Nr. 1 um die unteren. Eine am selben Tage untersuchte Parallelpflanze erbrachte übrigens einen hundertprozentigen Nachweis.

Tabelle 3
Prüfung der Flava-Freilandpflanze Nr. 7 am 15. Juni 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb						
	I 46 cm	II 43 cm	III 42 cm	IV 38 cm	V 40 cm	VI 40 cm	VII ²⁾
1	0	0/+	0	0/+	0	0	0
2	—	0	++/+++	+/++	0	0	0
3	0	—	+++/++++	0/+	0	—	0
4	0	0	+++/++++	++/+++	0	—	++
5	—	0	+++	+	+++	—	++/+++
6	++/+++	0	++	+/++	+	++/+++	++
7	++/+++	0	+++	+	+/++	+++	++/+++
8	++/+++	++	+++	++	+/++	++/+++	+++
9	+++	+/++	+++/++++	++/+++	++	++/+++	+++
10	+++	++/+++	++/+++	+++	+++	++/+++	+++
11	++/+++	+++	++/+++	++	++	+++/++++	++/+++
12	++/+++	++/+++	++/+++	+	+++	+/++	+++
13	++/+++	+++	0	—	—	+++	++
14	++/+++	+	+/++	—	—	++/+++	++/+++
15	+/++	++/+++	—	—	—	++	+/++
16	—	++/+++	—	—	—	—	—

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb						
	VII ²⁾ 43 cm	IX 39 cm	X 38 cm	XI ³⁾	XII 30 cm	XIII 26 cm	XIV 30 cm
1	+++	0	0	0	—	—	—
2	+++	0	++	++	0	++	+++
3	++	0	++/+++	++		++/+++	—
4	++/+++	0	++/+++	+++	++	++/+++	+++/++++
5	+++	+++	++/+++	++/+++	++	+++/++++	—
6	++/+++	+++	+++/++++	++	+++	+++/++++	+++/++++
7	+++	+++	++/+++	+/-	+++	+++/++++	++/+++
8	+++	+++	+++/++++	+/-	+++	+++	++/+++
9	++	++/+++	+++/++++	—	—	—	—
10	++/+++	+++	++	—	—	—	—
11	+/-	+++	++/+++	—	—	—	—
12	++	+/-	—	—	—	—	—

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt²⁾ i = infizierter Trieb³⁾ Länge nicht festgestellt

Tabelle 4
Prüfung der Frühbote-Freilandpflanze Nr. 7 am 15. Juni 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb				
	I 32 cm	II 31 cm	III 36 cm	IV 34 cm	V 39 cm
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	++++	0	0	0
6	0	+++/++++	0	0	0
7	+++/++++	++++	0	0	0
8	0	++++	0	0	0
9	++++	+++/++++	0	0	0
10	++++	0	0	0	0
11	0	-	0	0	0
12	-	-	0	-	0

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb				
	VI i ²⁾ 30 cm	VII 32 cm	VIII 29 cm	IX 28 cm	X 28 cm
1	0	0/+	0	0	0
2	++	+/-	0	0	0
3	+++	+++	0	++++	++/+++
4	++/+++	++/	0	++++	++/+++
5	++++	+++	++++	++++	+++
6	++++	++++	+++	0	+++
7	+++/++++	+++/++++	++++	-	++/+++
8	+++/++++	+++/++++	0	-	++/+++
9	-	-	-	-	+++

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt

²⁾ i = infizierter Trieb

Bei den mit „Erstling-X“ beimpften Pflanzen ließ sich das Virus nicht so früh feststellen wie bei den vorstehend erwähnten. Die Knollen waren gleichfalls am 29. April ausgelegt und die Pflanzen am 18. Mai infiziert worden. Sie wuchsen weiterhin auch unter denselben Bedingungen wie die übrigen, trotzdem war bei den Untersuchungen beimpfter und nichtbeimpfter Blätter der infizierten Triebe am 2. und 3. Juni das Virus bei 6 Pflanzen nur in einem einzigen beimpften Blatt zu finden. Anfang Juli ließ es sich dann ebenfalls fast überall nachweisen.

2. Frühbote

Ähnliche Ergebnisse wie bei der Flava wurden auch bei einer Reihe anderer Sorten erhalten, wie an einigen weiteren Beispielen gezeigt werden soll. Die Knollen der Sorte Frühbote waren im Freiland am 4. Mai ausgelegt und junge Triebe (3—7 cm groß) von 6 Pflanzen am 27. Mai mit „Flava-X“ infiziert worden. Die serologische Prüfung von 36 beimpften und nicht-beimpften Blättern am 9. Juni ergab nur für 7 Spaltenblätter einen negativen Befund. Daraufhin wurde am 15. Juni eine ganze Pflanze geprüft, sie zeigte ein ähnliches Verhalten wie Flava Nr. 1 (Tabelle 1). Beide Pflanzen wurden 19 bzw. 20 Tage nach der Infektion untersucht und ließen das Virus zum Teil in den oberen Blättern erkennen (Tabelle 4). Eine erst am 22. Juli untersuchte Parallelpflanze war erheblich stärker, aber auch nicht vollkommen mit dem Virus durchsetzt (Tabelle 5).

Die Gewächshauspflanzen Nr. 14 (Tabelle 6) und 10 (Tabelle 7) zeigen, daß im übrigen auch Pflanzen einer Sorte, die praktisch unter denselben Bedingungen stehen, sich etwas verschieden verhalten können. Die erstere war am 30. Juni schon vollkommen (bis auf ein Blatt) und die zweite nur zum Teil verseucht.

Tabelle 5
Prüfung der Frühbote-Freilandpflanze Nr. 8 am 22. Juli 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb I 30 cm	Blatt Nr. ¹⁾	Trieb II 36 cm	Blatt Nr. ¹⁾	Trieb III 41 cm	Blatt Nr. ¹⁾	Trieb IV 34 cm
H ²⁾ 1	++/+++	S 1	0	H 1	++	H 1	+
H 2	++/+++	S 2	++/+++	H 2	+++	H 2	0
H 3	++	S 3	+	H 3	0	H 3	+/-
S ³⁾ 4	++	S 4	++/+++	H 4	0	H 4	0
S 5	+++	S 5	++	S 5	0/+	H 5	0
S 6	+++	H 6	++	H 6	0	H 6	++
S 7	++/+++	H 7	0/+	H 7	0	H 7	+++
H 8	++/+++	S 8	++/+++	H 8	+		
H 9	+++	H 9	++/+++	H 9	+/-		
H 10	+++/++++	H 10	0				
H 11	+++	H 11	0				
H 12	+++	H 12	0/+				
		H 13	0/+				
		H 14	+++/++++				
		H 15	++/+++				

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt

²⁾ H = Blatt vom Haupttrieb

³⁾ S = Blatt eines Seitentriebs

Tabelle 6
Prüfung der Frühbote-Gewächshauspflanze Nr. 14 am 30. Juni 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb			
	I i ²⁾ 22 cm	II i 24 cm	III 17 cm	IV 18 cm
1	++	0	++	0/+
2	+/++	++/+++	++	+/++
3	++	+++	++/+++	+++
4	++/+++	+++	++	+++
5			++	
6			+++	

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt

²⁾ i = infizierter Trieb

Tabelle 7

Prüfung der Frühbote-Gewächshauspflanze Nr. 10 am 30. Juni 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb			
	I i ²⁾ 20 cm	II 23 cm	III 24 cm	IV
1	+/++	++	0	0
2	++/+++	0	0	0
3		0/+	0	
4		0	0	
5		++	0	
6		+++/++++	0	
7		+++	0	
8		++/+++	0	
9			0	

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt

²⁾ i = infizierter Trieb

3. Oberarnbacher Frühe

Von den Freilandpflanzen dieser Sorte beimpften wir einen Teil am 25. Mai ebenfalls mit „Flava-X“. Die am 7. und 9. Juni von den infizierten Trieben gewonnenen Proben reagierten sämtlich positiv, während die am 11. Juni vorgenommene Prüfung einer ganzen Pflanze wiederum in einigen unteren Blättern das Virus vermissen ließ, und ein Trieb sogar keine Reaktion gab (Tabelle 8). Eine erst am 4. Juli untersuchte Pflanze war praktisch ganz verseucht (Tabelle 9).

Daß aber selbst zwei Monate nach der Impfung der Krankheitsstoff bei den hier nur angeführten Frühinfektionen nicht immer die ganze Pflanze zu erfassen vermag, sei an der Gewächshauspflanze Nr. 7 (Tabelle 10) gezeigt. Der Trieb IV läßt keine Infektion erkennen, Trieb II nur eine teilweise, während die meisten Blätter von Trieb I schon bei vorhergehenden Prüfungen positiv bewertet wurden und deshalb zum Teil in der Tabelle nicht mehr aufgeführt sind.

Tabelle 8
Prüfung der Oberarnbacher Frühe-Freilandpflanze Nr. 7 am 9. Juni 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb					
	I i ²⁾ 32 cm	II 27 cm	III 28 cm	IV 23 cm	V 20 cm	VI 25 cm
1	0	0	0	0	0	0
2	+++	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	++/+++	+/++	0	0	0	0
5	+++	0	0	0	+++	0
6	++/+++	++/+++	+	0	+++	0
7	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	0	
8	+++/++++	++/+++	+++	++	+++	
9	+++	0	+/-	+/-	++	
10	+++	0	0	0	+	
11	++		0			
12	++					
13	0					
14	0					

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt

²⁾ i = infizierter Trieb

4. Weitere Sorten

Die an anderen Sorten: Böhms Mittelfrühe, Capella, Cornelia, Frühmölle, Frühperle und Primula erzielten Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit den schon erwähnten überein, so daß sich eine weitere Darlegung erübriggt. Die Infektion bzw. der Grad der Durchdringung ließ sich in allen Fällen gut nachweisen.

II. Prüfung der unter verschiedenen Temperaturbedingungen gewachsenen Pflanzen

Bei den eingangs schon erwähnten Untersuchungen des Jahres 1948 war aufgefallen, daß sich Erstlingpflanzen unter besonderen Gewächshausbedingungen zeitweise anders verhielten als Freilandkulturen. Zu einem bestimmten Zeitpunkt zeigten die ersten in den oberen Teilen kein Virus, und es war vermutet worden, daß die Temperatur dabei eine Rolle gespielt habe. Wir pflanzten am 23. Februar 1949 aus diesem Grunde 36 Erstlingknollen in zwei verschieden temperierten Gewächshäusern aus. Um auch den Einfluß der Keimtemperatur, die nach Stapp und Bartels (6) für den X-Nachweis in Kartoffeldunkelkeimen von entscheidender Bedeutung ist, auf den Nachweis in grünen Blättern zu prüfen, waren die Knollen unter verschiedenen Bedingungen vorgekeimt worden und zwar zu einem Teil bei 21°, zu einem

Tabelle 9
Prüfung der Oberarnbacher Frühe-Freilandpflanze Nr. S am 4. Juli 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb I i ²⁾ 50cm	Blatt Nr.	Trieb I i 50cm	Blatt Nr.	Trieb I i 50cm	Blatt Nr.	Trieb II 64cm	Blatt Nr.	Trieb III 64cm	Blatt Nr.	Trieb IV 68cm	Blatt Nr.	Trieb IV 68cm
S ³⁾ 1	+	S 24	+	S 47	+	H 1	0	H 1	+	H 1	+	H 24	+
S 2	+	S 25	+	S 48	+	S 2	+	S 2	+	H 2	0	S 25	+
S 3	+	S 26	+	S 49	+	H 3	0	S 3	+	S 3	+	H 26	+
S 4	+	S 27	+	S 50	+	H 4	+	S 4	+	S 4	+	H 27	+
S 5	+	S 28	+	S 51	+	S 5	+	S 5	+	S 5	+	H 28	+
S 6	+	S 29	+	S 52	+	H 6	+	H 6	0	S 6	+	H 29	+
S 7	+	S 30	+	S 53	+	H 7	+	S 7	+	S 7	+		
S 8	+	S 31	+	H 54	+	H 8	+	S 8	+	S 8	+		
S 9	+	H 32	+	S 55	+	H 9	+	S 9	+	S 9	+		
S 10	+	S 33	+	S 56	+	H 10	+	S 10	+	H 10	+		
S 11	+	S 34	+	S 57	+	H 11	+	S 11	+	S 11	+		
S 12	+	S 35	+	S 58	+	H 12	+	S 12	+	S 12	+		
S 13	+	H 36	+	S 59	+	H 13	+	H 13	0	S 13	+		
S 14	+	S 37	+	S 60	+	H 14	+	S 14	+	S 14	+		
S 15	+	S 38	+	S 61	+	H 15	+	H 15	+	S 15	+		
S 16	+	S 39	+	H 62	+			H 16	+	S 16	+		
S 17	+	S 40	+	H 63	+			H 17	+	S 17	+		
H ⁴⁾ 18	+	S 41	+	H 64	+			H 18	+	H 18	+		
S 19	+	S 42	+	H 65	+			H 19	+	H 19	+		
S 20	+	S 43	+	S 66	+			H 20	+	H 20	+		
S 21	+	S 44	+	H 67	+			H 21	+	H 21	+		
S 22	+	S 45	+	H 68	+			H 22	+	H 22	+		
S 23	+	S 46	+	H 69	+			H 23	+	H 23	+		

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt²⁾ i = infizierter Trieb³⁾ S = Blatt eines Seitentriebes⁴⁾ H = Blatt des Haupttriebs⁵⁾ + = positive Reaktion

zweiten bei ungefähr 12°C und zu einem dritten bei etwa 5°C , so daß jede Versuchsreihe in jedem Gewächshaus 6 Pflanzen umfaßte. Das durchschnittliche Tagesmaximum lag für das kältere Haus (I) während der Versuchszeit (bis Ende März) bei $13,7^{\circ}\text{C}$ und das -minimum bei $6,7^{\circ}\text{C}$. Die Vergleichswerte des wärmeren Hauses (II) betrugen ungefähr 25°C bzw. 13°C .

Die Zahl der sich entwickelnden Triebe war einmal von der Keim- und zum andern von der Gewächshaustemperatur abhängig. Im kälteren Haus hatten

Tabelle 10
Prüfung der Oberarnbacher Frühe-Gewächshauspflanze Nr. 7 am 26. Juli 1949

Blatt Nr. ¹⁾	Trieb I i ²⁾ 32 cm	Blatt Nr.	Trieb II 40 cm	Blatt Nr.	Trieb III 32 cm	Blatt Nr.	Trieb IV 41 cm
H ³⁾ 1	+++/++++	H 1	+++/++++	H 1	0	H 1	0
H 2	+++	H 2	0	H 2	+++/++++	H 2	0
		H 3	0	H 3	+++	H 3	0
		H 4	0	H 4	++	H 4	0
		H 5	0	H 5	+++	H 5	0
		H 6	++/+++			H 6	0
		H 7	+++			H 7	0
		H 8	+++			S 8	0
		S ⁴⁾ 9	0			S 9	0
		S 10	0			S 10	0
		S 11	++/+++			S 11	0
		S 12	0			S 12	0
		S 13	++			S 13	0
		S 14	+++				

¹⁾ Nr. 1 = unterstes Blatt

²⁾ i = infizierter Trieb

³⁾ H = Blatt des Haupttriebs

⁴⁾ S = Blatt eines Seitentriebs

die bei 21° C vorgekeimten Pflanzen zusammen 14, die bei 12° C gekeimten 19 und die bei 5° C gekeimten 12 Sprosse ausgebildet. Im wärmeren Haus blieb das Verhältnis der Anzahl ebenso, wenn sie sich auch, gemäß der van Hoff'schen Regel, rund verdoppelt hatte und die entsprechenden Zahlen 30, 42 und 28 betragen.

Die weitere Entwicklung der Pflanzen war ebenfalls in den beiden Häusern recht unterschiedlich. Hierfür dürfte in gleicher Weise die Temperatur verantwortlich sein, wenn allerdings andersartige Lichtverhältnisse auch eine gewisse Rolle gespielt haben können.

Die Pflanzen in Haus II wuchsen verhältnismäßig schnell. Dabei war zwischen den verschieden vorgekeimten Kartoffeln kein wesentlicher Unterschied festzustellen. Am 10. März konnten zum ersten Male Triebe geprüft werden, die eine Länge von 3—7,5 cm erreicht hatten. Sie gaben mit wenigen Ausnahmen keine Reaktion. Weitere Prüfungen von Sprossen bis zu 12 cm am 14. und 16. März brachten ebenfalls in den meisten Fällen keine positiven Ergebnisse. Erst in den Untersuchungen vom 22. März (nach 4 Wochen) und später konnte das Virus durchweg nachgewiesen werden; selbst kleine Sprosse von 2 und 3 cm Länge reagierten zu dieser Zeit positiv.

In Haus I entwickelten sich die Pflanzen sehr langsam. Während die bei 21° und 12° C vorgekeimten Kartoffeln fast gleichschnell wuchsen, blieben

die bei 5°C gelagerten etwas zurück. Dies zeigte sich auch daran, daß von den ersten beiden Versuchsreihen am 23. und 24. März Proben gewonnen werden konnten, während es in der letzten Reihe nur bei 2 Pflanzen möglich war. Die untersuchten Triebe hatten eine Länge von 2—5 cm und gaben bis auf wenige Ausnahmen Virusreaktionen. Spätere Prüfungen bestätigten das Ergebnis.

Ein gleicher Versuch wurde am 12. April 1949 begonnen. Allerdings konnten nicht dieselben Temperaturen eingehalten werden. Haus I hatte in der Versuchszeit durchschnittliche Tagesextremwerte von 19,2° und 10,9°C, während die Zahlen für Haus II 31,1° und 13,8°C betragen. Die Pflanzen wuchsen dementsprechend schneller als beim früheren Versuch. Die ersten Prüfungen an Exemplaren beider Häuser führten wir am 29. April durch. Infolge der verhältnismäßig hohen Temperaturen hatten die zu untersuchenden Triebe in Haus I schon eine Größe von 4—16 und im Hause II von 4—21 cm erreicht. Sie ergaben im ersten Fall bei 42 Proben 16 positive Reaktionen und für das wärmere Haus bei 75 Prüfungen nur 2 positive Befunde. Weitere Untersuchungen (im ganzen 680 Einzelproben) wurden in der Zeit vom 4.—16. Mai an den Pflanzen beider Häuser durchgeführt. Die Länge der Triebe, von denen bei den größeren jedes Blatt einzeln geprüft wurde, schwankte zwischen 4 und 44 cm. In fast allen Proben ließ sich nunmehr das Virus nachweisen, so daß eine eingehendere Darstellung überflüssig erscheint.

Ergänzenden Freilandversuchen mit derselben Sorte lag die Frage zugrunde, ob der X-Nachweis und damit die Virusvermehrung auch unter natürlichen Bedingungen im Frühstadium vom Klima, d. h. in erster Linie von der Temperatur abhängig ist. Zu diesem Zweck pflanzten wir je 10 Erstlingsknollen in Abständen von 5 Tagen an 6 verschiedenen Daten (vom 14. April bis 9. Mai 1949) aus. Die Temperaturunterschiede während der Pflanzzeit waren so gering — sie lagen jeweils im Fünftagedurchschnitt zwischen 6,9° und 9,4°C^{—1}), daß sie sich nicht in den Ergebnissen auswirkten. Das Virus ließ sich im allgemeinen bei Trieben von 5 cm Größe sicher nachweisen, zum Teil war es auch schon in kleineren zu finden. Dort, wo es möglich war, wurden wiederum auch die einzelnen Blätter geprüft, wobei sich ebenfalls zeigte, daß das Virus schon die gesamte kleine Pflanze durchsetzt hatte.

III. Prüfung von Kartoffellaub während der Abreife

In Untersuchungen des Jahres 1948 ließ sich das X-Virus sogar während der Abreife bei völlig vergilbten Blättern der Sorte Erstling nachweisen. Kranke Prisca-Pflanzen verhielten sich dagegen ein wenig anders. Sie zeigten zwar das Virus auch noch zu Beginn der Vergilbung; mit fortschreitender Abreife ließ es sich aber immer weniger finden, und in ganz vergilbten Blättern war der Nachweis nicht mehr möglich. Es schien deshalb von Interesse, dieser Frage bei weiteren Sorten nachzugehen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 11 zusammengefaßt. Sie zeigen für alle 5 Sorten, daß bei leichter Vergilbung

¹⁾ Nach an der Erdoberfläche auf dem Gelände der B. B. A. gemessenen Werten der Wetterwarte Braunschweig.

Tabelle 11
Prüfungen während der Abreife

Kartoffelsorte Datum der Untersuchung	Serologische Prüfung		Zustand der Blätter
	+	-	
Erstling 19. 8. 1949	31	—	leicht vergilbt — fast vertrocknet
Krebsf. Kaiserkrone 19. 8. 1949 6. 9. 1949	18 4	4 23	leicht vergilbt — vergilbt leicht vergilbt — fast vertrocknet
Direktor Johanssen 24. 8. 1949 1. 9. 1949 6. 9. 1949	26 42 4	15 5 15	leicht vergilbt — vergilbt grün — vergilbt (20 grün) leicht vergilbt — stark vergilbt
Jubel 24. 8. 1949 13. 9. 1949	16 27	— 11	leicht vergilbt in der Mehrzahl vergilbt
Sabina 19. 8. 1949 24. 8. 1949 6. 9. 1949	16 14 —	12 12 31	leicht vergilbt — vergilbt leicht vergilbt — vergilbt leicht vergilbt — stark vergilbt

im allgemeinen positive Reaktionen erhalten wurden. Später, d. h. mit fortschreitender Vergilbung, nahm ihre Zahl ab. Dies gilt sowohl für die als X-Träger bekannten Sorten: Krebsfeste Kaiserkrone, Jubel und Dir. Johanssen als auch für kranke Pflanzen von Sabina. Die Sorte Erstling wurde wegen ihres schon bekannten Verhaltens nur einmal untersucht und zeigte bei fast vertrockneten Blättern noch starke Reaktionen. Zwischen den einzelnen Sorten traten kleine Unterschiede auf. Während nämlich Krebsfeste Kaiserkrone, Dir. Johanssen und Sabina am 6. September kaum noch oder gar keine Virusreaktionen gaben, zeigte Jubel das Virus sogar am 13. September noch in 71% der untersuchten Blätter. Dabei war auch diese Sorte schon so weit in der Abreife, daß die zu prüfenden Triebe in den meisten Fällen nur noch die unmittelbar an der Spitze befindlichen Blätter trugen.

Besprechung

Die Frage des serologischen Nachweises bei Primärerkrankungen, die vor allem auch für die Praxis der Viruskontrolle von Wichtigkeit ist, konnte eindeutig positiv beantwortet werden. Das Problem liegt allerdings nicht so einfach wie für die von der Knolle ausgehenden Sekundärerkrankungen, bei denen der Krankheitsstoff von vornherein in der Pflanze vorhanden ist und sich infolgedessen mit fortschreitendem Wachstum des Wirts vermehren und ausbreiten kann. In letzterem Falle sind Nachweismöglichkeit und Totalbefall gewissermaßen gekoppelt, d. h. man kann ein beliebiges Blatt zur Untersuchung verwenden, da im allgemeinen die ganze Pflanze versteucht ist. Für Primärerkrankungen trifft dies nur beschränkt zu. Bei ihnen muß sich das Virus selbstverständlich nach der Infektion zunächst einmal vermehren, bevor es selbst in den künstlich infizierten Teilen nachzuweisen ist. Die

dazu notwendige Zeit ist nicht in allen Fällen gleich, so war z. B. in den Flavapflanzen das „Erstling-X“ später als „Flava-X“ zu finden. Diese Tatsache überrascht keineswegs, nachdem schon Köhler 1942 (5) über die unterschiedliche Vermehrungsgeschwindigkeit verschiedener Stämme des Kartoffel-X-Virus in Tabakblättern berichtet hat.

Eine merkliche, d. h. kontrollierbare Ausbreitung tritt erst nach der anfänglichen Vermehrung ein, und das Virus vermag, wenn die Infektion früh genug erfolgt, nach einiger Zeit die ganze Pflanze zu durchsetzen, wie einige der angeführten Beispiele lehren. Aber auch bei Frühinfektionen kann es, wie ebenfalls gezeigt, vorkommen, daß das Virus nicht in jedem Trieb bzw. in jedes Blatt gelangt. Auch das ist nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, daß die einzelnen Triebe schon verhältnismäßig früh selbstständig werden können und andererseits sogar in jungem Stadium infizierte Tabakpflanzen nicht immer in jedem Blatt Virus enthalten. Köhler (4) hat z. B. festgestellt, daß junge Tabakpflanzen, die an 2 Blättern beimpft werden, oft in dem nächsthöheren Blatt kaum Virus enthalten. Stapp und Marcus (8, Abb. 4) haben darüber hinaus beobachtet, daß das Virus selbst 20 Tage nach der Infektion nicht unbedingt in jedem Tabakblatt in nachweisbarer Menge vorhanden ist. Ähnliche Beobachtungen wurden auch in eigenen Versuchen gemacht (1).

Diesen Ergebnissen wird bei der Kontrolle von Kartoffelpflanzen am besten in der Weise Rechnung getragen, daß man zur Untersuchung des Primärbefalls eine Mischprobe von Blättern aller Triebe verwendet. Eine solche Maßnahme ist besonders auch deswegen angebracht, weil sich bei älteren Pflanzen Infektionen nur noch teilweise durchsetzen können. In anderem Zusammenhang ist von mir nämlich mitgeteilt worden (2), daß das X-Virus bei Flavapflanzen eines bestimmten Alters nicht mehr von dem Trieb, der die künstlich beimpften Blätter trug, auf die übrigen Teile übergreifen konnte. Hierdurch wird die Diagnose auf Virusbefall mit einer kleinen Unsicherheit belastet, da es vorkommen kann, daß von beispielsweise 6 Trieben nur einer — vielleicht auch nur teilweise — infiziert ist, und deswegen nur ein gewisser Prozentsatz der Knollen erkrankt. Diese Unsicherheit darf aber nicht der serologischen Methode zur Last gelegt werden, sie ist vielmehr prinzipieller Art. Wieweit sie für die Praxis von Bedeutung ist, soll in noch ausstehenden Prüfungen festgestellt werden.

Die Versuche mit Erstlingpflanzen unter verschiedenen Temperaturbedingungen sollten einen Einblick geben, wieweit Außenfaktoren, d. h. in diesem Fall die Temperatur, den X-Nachweis beeinflussen können. Die Frage interessiert besonders auch im Hinblick auf eine möglichst frühe Erfassung des Infektionsstoffes in der jungen Pflanze. Frühere Untersuchungen hatten unter anderem ergeben, daß sich das Virus erst in Trieben einer gewissen Größe sicher finden ließ, wobei aber auch schon darauf hingewiesen wurde, daß der Nachweis mehr noch vom Alter der ganzen Pflanze abhängig sei. Die Versuche des Frühjahrs 1949 brachten dafür weitere Belege. Bei bestimmten, im experimentellen Teil angegebenen Temperaturen wuchsen die jungen Pflanzen verhältnismäßig schnell, und die Triebe erreichten — je nach der Temperatur — eine zum Teil beträchtliche Größe, ehe sich das Virus

auf serologischem Wege erkennen ließ. Bei älteren Pflanzen gaben dagegen auch sehr kleine Sprosse schon positive Reaktionen.

Wurden die Kartoffelpflanzen unter kühleren Bedingungen herangezogen, so wuchsen sie entsprechend langsam, und das Virus war von Anfang an in kleinen Trieben von 2—5 cm Länge zu finden. Würde man in den vorliegenden Fällen das Alter der Pflanzen nach ihrer Größe beurteilen, so käme man zu dem Schluß, daß niedrige Temperaturen den X-Nachweis förderten, dagegen höhere ihn hinauszögerten. In Wahrheit zeigte sich aber in der Prüfung des Monats März, daß das Virus bei den Pflanzen in Gewächshaus I und II praktisch zur gleichen Zeit nachgewiesen wurde und das temperaturbedingte schnellere Wachstum ein höheres Alter nur vortäuscht. Anscheinend kommt im letzteren Falle das Längenwachstum in Gang, ohne daß zunächst eine nennenswerte Virusvermehrung stattfindet, während sie bei langsamer wachsenden Pflanzen Schritt halten kann. Für eine Frühdiagnose in der Praxis spielt diese Erscheinung keine Rolle. Denn selbst wenn die Pflanzzeiten im Frühjahr 4 Wochen auseinanderlagen, waren die Temperaturunterschiede so gering, daß sie das Wachstum nicht in der eben beschriebenen Weise beeinflussen konnten.

Vergleicht man die Freilandprüfungen der Jahre 1948 und 1949, so fällt auf, daß ein sicherer Virusnachweis im Jahr 1948 erst bei etwas größeren Pflanzen möglich war als 1949. Bei einem Versuch, diesen Befund zu deuten, muß berücksichtigt werden, daß die Knollen im ersten Jahr reichlich spät, Anfang Juni, ausgelegt wurden, und die sich entwickelnden Pflanzen bei höheren Temperaturen und infolgedessen auch schneller wuchsen als die im April gepflanzten Kartoffeln des zweiten Jahres. Die Beobachtungen fügen sich demnach zwanglos in die bisher geschilderten ein.

Aus den Untersuchungen kann im übrigen nicht geschlossen werden, daß die Temperatur prinzipiell keinen Einfluß auf die Virusvermehrung habe. Um diese Frage entscheiden zu können, wären Versuche notwendig gewesen, für die uns zur Zeit aus technischen Gründen die Voraussetzungen fehlen. Wir haben nur gewisse Endpunkte im Entwicklungsablauf erfaßt, aus denen gefolgert werden kann, daß das Wachstum der Kartoffelpflanze unter den gegebenen Bedingungen für den Virusnachweis von Wichtigkeit war. Für den ersten Nachweis in der jungen Pflanze ist die für eine ausreichende Virusvermehrung notwendige Zeit allerdings von noch größerer Bedeutung. Hat die Vermehrung einen gewissen Umfang angenommen, so genügt sie einerseits für den Nachweis in den zuerst gewachsenen Trieben — die je nach den Temperaturbedingungen verschieden groß sein können — und andererseits auch schon für die positive Bonitierung sehr kleiner nachgewachsener Sprosse. Einen Hinweis für einen direkten Einfluß der Temperatur auf die Virusvermehrung geben vielleicht die am 29. April 1949 durchgeföhrten Prüfungen des zweiten Versuches. Die gleichalten Pflanzen des kühleren und wärmeren Hauses waren ungefähr auch gleich groß, trotzdem ließen 75 Proben des wärmeren Hauses nur 2 positive Reaktionen erkennen, während es bei 42 des weniger warmen Hauses immerhin 16 waren. In die gleiche Richtung deuten möglicherweise auch schon erwähnte Versuche von Stapp

und Bartels (6), die bei Kartoffeldunkelkeimen feststellten, daß bei einer Erhöhung der Keimtemperatur von 21° auf 25°C nur noch in 50% der Fälle der X-Nachweis gelang.

Obgleich für die Virusbekämpfung eine möglichst frühe Diagnose wichtig ist und eine spätere Bonitierung wegen der zumindest verbreiteten Altersresistenz der Kartoffel gegen das X (2) im allgemeinen auch nicht notwendig erscheint, beansprucht eine ausgesprochene Spätdiagnose nicht nur theoretisches Interesse. Für die verhältnismäßig früh abreifenden (Früh-) Sorten könnte sie auch praktische Bedeutung haben. Aus diesem Grunde wurden die früheren Prüfungen (3) der Sorten Erstling und Prisca im Zustand der Abreife an weiteren Sorten durchgeführt. Vorauszuschicken ist, daß es sich in allen Fällen um sekundär krankes Material (mit einer Ausnahme waren es sogar „Virusträger“) handelte und deshalb nicht gesagt werden kann, ob sich primär-infizierte Pflanzen in gleicher Weise verhalten, wenngleich es wahrscheinlich ist.

Die untersuchten Sorten gehören nach der in Tabelle 11 eingehaltenen Reihenfolge zu den Klassen „sehr früh“ bis „mittelpünktig bis spät“, und es hat den Anschein, als wenn Erstling und die früher untersuchte Prisca auch bezüglich des Virusnachweises 2 Extreme einer Reihe darstellen. Prisca zeigte nämlich in vergilbten Blättern keine Virusreaktionen mehr, während die leicht vergilbten Blätter desselben Sprosses noch teilweise und die grünen Blätter in allen Fällen positive Ergebnisse brachten. Im Gegensatz dazu ließ sich das Virus bei Erstling noch in fast vertrockneten Blättern finden. Zwischen diesen beiden Beispielen liegen die übrigen Sorten. Sie gestatten den Nachweis zunächst noch bei leicht bis ganz vergilbten Blättern, aber mit fortschreitender Abreife nehmen die positiven Reaktionen ab. Bei der Sabina war am 6. September 1949 sogar kein Virus mehr zu finden, während die größtenteils schon ganz vergilbten Blätter von Jubel es am 13. September noch zum Teil erkennen ließen.

Die vorliegenden Ergebnisse können somit als Hinweis darauf angesehen werden, daß der Virusnachweis vermutlich auch bei anderen Sorten noch in einem sehr späten Entwicklungszustand der Pflanze möglich sein wird. Um das Problem aber im einzelnen zu klären, sind weitere Untersuchungen notwendig.

Zusammenfassung

Nach der Blättchenmethode durchgeföhrte serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen brachten folgende Ergebnisse:

1. Die auch für die Praxis wichtige Frage des Nachweises bei Primärerkrankungen konnte für alle neun geprüften Kartoffelsorten eindeutig positiv beantwortet werden.
2. Das Virus vermochte bei verhältnismäßig früh durchgeföhrten Infektionen im allgemeinen die ganze Pflanze zu durchdringen.
3. „Flava-X“ und „Sabina-X“ vermehrten sich in der Sorte Flava schneller als „Erstling-X“.
4. Wegen der möglichen Ausnahmen und vor allem wegen der stets unvollständigen Durchdringung bei späteren Infektionen ist zur Bonitierung

- des Gesundheitszustandes eine Durchschnittsprobe von allen Trieben einer Staude notwendig.
5. Der Nachweis in jungen sekundärkranken (Erstling-) Pflanzen ist in erster Linie von ihrem Alter abhängig. Versuche in zwei verschiedenen temperierten Gewächshäusern zeigten, daß bei höherer Temperatur die Pflanzen zwar schneller wuchsen, die Virusvermehrung zumindest aber nicht Schritt halten konnte. Die Vorkeimtemperatur war im wesentlichen ohne Einfluß.
 6. Für eine Frühdiagnose im Freiland sind die beim Innehalten normaler Pflanzzeiten auftretenden geringen Temperaturunterschiede ohne Bedeutung.
 7. Die Prüfung von fünf in der Abreife befindlichen Sorten ergab zum Teil schon das Vorhandensein des Virus in völlig vergilbten Blättern.

Schrifttum

- 1 Bercks, R., Serologische Beiträge zur Frage der Abwehr von Zweitinfektionen bei X-Viren. Phytopathol. Zeitschr. **15**, 54—61, 1948/49.
- 2 Bercks, R., Über das Verhalten verschiedener X-Virusherkünfte bei Infektionsversuchen an mehreren Kartoffelsorten (Vorläufige Mitteilung). Nachrichtenblatt der Biol. Zentralanstalt Braunschweig **1**, 171—173, 1949.
- 3 Bercks, R., Serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen. Phytopathol. Zeitschr. **16**, 71—85, 1949/50.
- 4 Köhler, E., Vergleichende Untersuchungen über die Ausbreitungsgeschwindigkeit verschiedener Stämme des X-Mosaik-Virus in der Tabakpflanze. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten u. Pflanzenschutz **48**, 118—128, 1938.
- 5 Köhler, E., Über die unterschiedliche Vermehrungsgeschwindigkeit von Stämmen des Kartoffel-X-Virus. Zentralbl. f. Bakt. II **104**, 401—406, 1942.
- 6 Stapp, C. und Bartels, R., Der serologische Nachweis des X-Virus in Dunkelkeimen der Kartoffelknolle. Der Züchter, **20**, 42—47, 1950.
- 7 Stapp, C. und Bercks, R., Über weitere Antrocknungsversuche mit Seren gegen Kartoffelviren. Phytopathol. Zeitschr. **15**, 47—53, 1948/49.
- 8 Stapp, C. und Marcus, O., Serologische Untersuchungen an Tabak über Ausbreitung und Verteilung der 3 Kartoffelviren X, Y und A. Zentralbl. f. Bakt. II **105**, 369—405, 1949.

Kurze Mitteilungen

*Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Bakteriologie und Serologie, Braunschweig-Gliesmarode*

Über die Konservierung von Kartoffel-X-Virus durch Glycerin

Von

R. Bercks

In der Human- wie auch in der Veterinär-Medizin hat sich Glycerin als Konservierungsmittel für Viren seit langem vielfach bewährt. Bei phytopathogenen Viren scheint es aber bisher kaum erprobt zu sein. Klebahn hat 1928 versucht, mittels Glycerin Virus aus Tabakblättern zu extrahieren, und Gratia und Manil geben 1939 an, daß Zusatz von gleichen Teilen Glycerin zu virushaltigen Blattpreßsäften konservierend wirkt. Die letzteren Autoren benutzten solche Gemische nach Verdünnung sowohl zum Immunisieren von Kaninchen als auch zur Prüfung der Seren. Einzelheiten, wie z. B. die Dauer der Konservierung, werden von ihnen nicht erwähnt. Ferner geht aus ihrer Mitteilung nicht klar hervor, welche Viren konserviert wurden. Da von mosaikkranken Pflanzen gesprochen wird, läßt sich aus dem Zusammenhang vermuten, daß es sich um Tabakmosaik und Kartoffel-X-Virus gehandelt hat.

Unabhängig von diesen Befunden haben wir im Februar 1948 begonnen, die Möglichkeit einer Konservierung des Kartoffel-X-Virus mit Glycerin zu prüfen. Wir führten unsere Versuche mit Virusrohlösungen durch, die wir durch Vereisung und anschließendes Zentrifugieren von X-virushaltigem Tabakpreßsaft gewannen, der auf diese Weise vollkommen klar wurde und nur eine braune Färbung zeigte. Die Lösungen brachten wir durch steigende Glycerinmengen auf einen Gehalt von 20—70% des Konservierungsmittels, hielten sie im Kühlraum bei einer Temperatur von +3° C und prüften ein Jahr lang ihre Aktivität auf serologischem Wege in Abständen von 4—6 Wochen. Die Kontrolle ohne Glycerin versagte schon nach einem Monat und entsprach damit unseren früheren Erfahrungen. Nach drei Monaten gab die Lösung mit 20% und nach acht Monaten auch die mit 30% Glycerin keine Reaktion mehr, während die weiteren mit 40, 50 und 60% noch bei der letzten Prüfung nach einem Jahr sich bezüglich der Reaktionsstärke und des Serumtiters (1 : 4096) wie beim Beginn des Versuches verhielten. Der Zusatz von 70% Glycerin erwies sich als ungünstig. Schon bei der ersten Prüfung mit konzentriertem Serum wie auch mit schwachen Verdünnungen trat keine und mit stärkeren Serumverdünnungen nur eine schwache Reaktion auf. Bei späteren Prüfungen dieser Konzentrationsstufe sahen die Präcipitate „kristallin“ und wenig typisch aus. Selbstverständlich wurden die Viruslösungen vor der serologischen Prüfung auf die gleiche Konzentration gebracht. Die Stärke der Reaktion war im übrigen in allen Versuchsreihen, wenn auch nicht stets so doch in den meisten Fällen, mit konzentriertem Serum geringer als mit schwachen Verdünnungen. Diese Erscheinung dürfte auf der zu hohen Viscosität des Mediums: Viruslösung — Serum beruhen, die bei Verwendung von Serum, das mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt ist, erheblich vermindert wird. Übrigens geben auch schon Gratia und Manil an, daß sie das mit Glycerin versetzte Serum zur Ver-

minderung der Viscosität auf $1/5$ oder $1/10$ mit physiologischer Lösung verdünnt haben. Die beim Ansatz des Versuches klaren Virusrohlösungen zeigten mit Ausnahme der 60- und 70 prozent. Reihen im Verlauf ihrer Alterung einen schwachen Bodensatz, der sich abzentrifugieren ließ und keinen Einfluß auf die Reaktionsfähigkeit der Lösungen hatte.

Bei einem gleichzeitig angesetzten Versuch mit einer anderen Viruslösung und einem schwächeren Serum war der serologische Nachweis nur bis zu 8 Monaten möglich. Hier war die schon beim vorstehenden Versuch erwähnte Erscheinung, daß die Reaktionsstärke mit konzentriertem Serum vielfach schwächer als mit verdünntem Serum war, noch ausgeprägter. Sie ging so weit, daß zum Teil auch bei der Serumverdünnung 1 : 2 kein Präcipitat entstand. Offenbar reichte der verhältnismäßig geringe Antikörpergehalt dieses schwachen Serums nicht für die Präcipitatabbildung bei der hohen Viscosität aus.

Nachdem sich somit das Glycerin für die Konservierung bei tieferer Temperatur als geeignet erwiesen hatte, wurde es auch bei Zimmertemperatur erprobt und zwar in der Konzentration von 50 %. Da das X-Virus nach unserem bisherigen Beobachtungen bei dieser höheren Temperatur gewöhnlich nach rund einer Woche nicht mehr aktiv ist, nahmen wir zunächst die Prüfungen in Abständen von 8 Tagen vor. Die Kontrolle ohne Glycerin reagierte nach einer Woche noch positiv, versagte aber nach 14 Tagen. Das Glyceringemisch ergab nach 7 Monaten noch einwandfreie und gute Reaktionen. Aus diesem Grunde verzichteten wir von diesem Zeitpunkt an auf die wöchentliche Untersuchung und führten sie nur monatlich durch. Nach 13 Monaten erhielten wir noch gute Reaktionen, die in keiner Weise den im Kühlraum aufbewahrten Parallelen nachstanden. Da das Gemisch zu diesem Zeitpunkt verbraucht war, mußte der Versuch abgebrochen werden. Es sei dazu nur noch bemerkt, daß die Reaktionsstärke bei den 2 Parallelen während des Versuches zeitweise erheblich schwankte. Eine Erklärung für diese Erscheinung kann nicht gegeben werden.

In drei weiteren Versuchen, die sich bisher auf einen Zeitraum von $1\frac{1}{4}$ Jahren erstreckten und die je mit Glycerinkonzentrationen von 20—70 % angesetzt waren, bemühten wir uns um die Feststellung, ob bzw. in welchem Umfange trotz der Konservierung eine allmäßliche Inaktivierung des Virus eintritt. Wir prüften die Frage, indem wir in größeren zeitlichen Abständen die Glyceringemische verdünnten und ihren Titer, d. h. den Verdünnungsgrad feststellten, der gerade noch eine serologische Reaktion auslöste. Es wurde schon erwähnt, daß die Glycerinkonzentrationen von 20 und 30 % nach einiger Zeit versagen. In einem der vorliegenden Versuche gab die Reihe mit 20 % Glycerin 7 Monate lang noch den gleichen Titer wie die übrigen Gemische, während sie nach einem weiteren Monat überhaupt nicht mehr reagierte. Ähnlich verhielt sich zu einem späteren Zeitpunkt auch die Reihe mit 30 % Glycerin, während die übrigen nach 13 Monaten ein allmäßliches Absinken zeigten. Bei den beiden anderen Versuchen machte sich in allen Verdünnungsreihen schon nach einem Monat ein Abfall der Aktivität bemerkbar, dann kam es zu einem Stillstand, und erst nach einem Jahr war ein weiteres Absinken zu bemerken.

Um dem möglichen Einwand zu begegnen, daß die serologischen Reaktionen noch nichts über das Infektionsvermögen des konservierten Virus aussagen, wurden von sämtlichen Stufen der Virus-Glycerin-Gemische gelegentliche Abreibungen auf Tabak (die letzten nach einem Jahr) vorgenommen. Dabei zeigte sich, daß die serologisch aktiven Gemische auch infektiös waren, allerdings machte sich in der Ausbildung der Symptome eine Verzögerung bemerkbar.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß ein Glycerinzusatz von 40—60% das Kartoffel-X-Virus mindestens ein Jahr und zwar sowohl im Kühlraum bei etwa 3°C als auch bei Zimmertemperatur aktiv erhält, während es ohne Glycerin schon nach rund einem Monat bzw. einer Woche inaktiviert wird. Die Dauer der Konservierung ist wahrscheinlich vom Virusgehalt der Ausgangslösung abhängig, und solange man nicht mit genau definiertem Material arbeitet, werden sich auch keine genauen Zeitangaben machen lassen.

Orientierende Versuche mit dem Kartoffel-Y-Virus verliefen bisher unbefriedigend, so daß über die Eignung des Glycerins zur Konservierung dieses Virus vorläufig noch nichts ausgesagt werden kann.

Schrifttum

- 1 Gratia, A. et Manil, P., Recherches sur les virus des plantes. Archiv f. ges. Virusforschung 1, 21—45, 1939/40.
- 2 Klebahns, H., Experimentelle und zytologische Untersuchungen an Alloiophyllie und Viruskrankheiten. Planta 6, 40—95, 1928.

Der Zinkmangel im europäischen Obstbau

Von

Dr. D. Mulder, Wilhelminadorp (Holland)

Der von Herrn Dr. M. Kastendieck in Ceres Heft 9/48 über Zinkmangelercheinungen (Rosettenkrankheit) veröffentlichte Artikel veranlaßt mich, einiges über die Verbreitung und die begleitenden Bodenverhältnisse dieser Krankheit zusammenzufassen.

Zinkmangelercheinungen an Obstbäumen sind bisher nur von Ungarn, Dänemark und Holland beschrieben worden. Verfasser konnte auch in Dänemark an verschiedenen Stellen die typischen Erscheinungen der Krankheit feststellen. Außerdem wurden die Symptome der Krankheit im Unterrichtsgarten der Gartenbauschule in Versailles bei Paris vom Verfasser beobachtet. Nunmehr liegen auch Berichte über das Vorkommen von Zinkmangelercheinungen im Obstbau in der Schweiz vor. Die Krankheit tritt also ziemlich weit verbreitet in Westeuropa auf. Vor allem sind es Apfelbäume, die befallen werden, jedoch wurde die Krankheit in Holland auch an Birnen und Kirschen festgestellt.

Die von mir in Holland beobachteten erkrankten Bäume zeigen die gleichen Krankheitssymptome wie sie von Dr. Kastendieck beschrieben wurden. Jedoch scheint die Gefahr einer Bedrohung des gesamten Obstbaues durch diese Krankheit nicht gegeben zu sein, da meistens nur einzelne Bäume erkranken und nach meinen Beobachtungen die Krankheit nur in älteren Obstplantagen auftritt.

Besonders scheinen die Bodenverhältnisse in einem festen Verhältnis zu den Krankheitserscheinungen zu stehen. Wie auch in Dänemark schon festgestellt wurde, tritt Zinkmangel nur dort auf, wo der Phosphorsäuregehalt des Bodens außerordentlich hoch ist. Dies soll aber nicht bedeuten, daß überall da, wo Phosphorsäure im Übermaß vorhanden ist, Zinkmangel auftritt. Es müssen noch zwei andere Faktoren hinzukommen.

1. Weisen diese Böden, auf denen Zinkmangel festgestellt wurde, einen geringen Gehalt an Ton bzw. Humuskolloiden auf. Es sind also meist leichte Böden, auf denen Zinkmanglerscheinungen zu erwarten sind. Schon bei einem Anteil von 20% Tonteilchen im Boden, ist es unwahrscheinlich, daß die Krankheit auftritt.
2. Sind diese Böden, die Zinkmanglerscheinungen hervorrufen, in der Regel ziemlich oder sehr kalkreich. Es ist bekannt, daß Kalk die Aufnahme von Zink hemmt.

Über die Wirkung von Phosphorsäure im Hinblick auf eine Festlegung von Zink im Boden gehen die Ansichten noch auseinander. Zinkphosphat ist sehr unlöslich, woraus leicht geschlossen werden kann, daß das Zink von überschüssiger Phosphorsäure weitgehend festgelegt wird. Außerdem scheint auch, daß Zink in der Pflanze bei hohem Gehalt an Phosphorsäure an diese gebunden wird. Es gibt schon verschiedene Fälle in der Literatur, wo Korrelationen zwischen Phosphorsäuregehalt des Bodens und Zinkmanglerscheinungen konstatiert worden sind.

In Holland und Dänemark wurden Zinkmanglerscheinungen bei Pflanzen durch übermäßiges Streuen von Phosphorsäuredünger auf leichten kalkreichen Böden künstlich hervorgerufen. Daß jedoch ein hoher Phosphorsäuregehalt allein nicht ausreicht, um diese Krankheit in Erscheinung treten zu lassen, beweist, daß in Obstlagen, die in Holland auf schwerem Flußton angelegt sind, die Krankheit keineswegs auftritt, obgleich hier viel höhere Phosphorsäuregehalte zu finden sind, als auf tonigen Meeresablagerungen. In Holland tritt Zinkmangel nämlich nur auf tonigen Meeresablagerungen und auf Dünensand auf. Die Krankheit wurde in drei Provinzen und zwar in Zeeland, Nord-Holland und Groningen festgestellt.

Man konnte die Krankheit jedoch ohne weiteres dadurch beheben, daß im Februar mit 5% Zinksulfatlösung oder kurz nach der Blüte mit $1\frac{1}{2}\%$ Zinksulfat, das mit 0,75% Kalk neutralisiert wurde, gespritzt wurde. Es wäre sehr interessant zu erfahren, ob im deutschen Obstbau dieselben Bodenverhältnisse vorliegen müssen, damit Zinkmanglerscheinungen möglich werden.

Die Bedeutung der Zinkmanglerscheinungen in Holland liegt vor allem darin, daß sie anzudeuten vermögen, wieweit man mit der Phosphorsäuredüngung auf leichten kalkreichen Böden zu gehen vermag.

Rosettenkrankheit und Boden

Ergänzung zu den Ausführungen von Dr. D. Mulder, Wilhelminadorp (Holland).

Von

Diplomgärtner Dr. M. Kastendieck, Limburgerhof

Die Ausführungen des Herrn Dr. D. Mulder über die Zusammenhänge von Boden und Zinkmangel im Obstbau können auf Grund der in der Vorderpfalz gemachten Erfahrungen weitgehend bestätigt werden. Überall in der Pfalz, wo die Rosettenkrankheit auftrat, handelte es sich um leichte Böden mit hohem pH-Wert. Ein von der Landw. Versuchsstation Limburgerhof untersuchter Boden, auf dem mit Sicherheit Zinkmangel aufgetreten war, mag als Beispiel dafür dienen, inwieweit die von Herrn Dr. D. Mulder aufgezeigten Voraussetzungen für das Auftreten der Krankheit Geltung haben.

Probeentnahme aus			In 100g trockenem Boden nach Egnér mg P ₂ O ₅	Gehalt an C	Humusgehalt	pH in KCl Susp.	Bodenart
Obergrund	0—20 cm	Tiefe	69,7	0,58 %	1 %	7,82	leicht humoser
Untergrund	20—30 cm	Tiefe	75,0	0,35 %	0,6 %	7,83	Sand

Auf Grund vorstehender Zahlen scheinen tatsächlich der hohe pH-Wert von 7,8 zusammen mit einem sehr hohen Gehaltswert an P₂O₅ (69,7 bzw. 75,0) in Verbindung mit der leichten Bodenart (leicht humoser Sand) am ehesten zu solchen Zinkmangelerscheinungen zu führen. Die Ursache der ungewöhnlich hohen P₂O₅-Werte liegt in einer sehr hohen Düngung mit Thomasphosphat in den vergangenen Jahren. Für die Praxis mag daraus abgeleitet werden, daß eine willkürlich hohe Phosphorsäuredüngung auf leichten und alkalischen Böden unter Umständen für die Obstculturen außerordentlich schädlich werden kann.

Die betreffende Anlage wurde Mitte März mit einer 12 prozent. Zinksulfatlösung gespritzt. Eine Mischung des Zinksulfats mit einem Gelbspritzmittel ist nicht möglich, wenn es sich um saure Produkte handelt (z. B. Selinon), dagegen zeigte eine Mischung von Zinksulfat mit einem alkalisch reagierenden Gelbspritzmittel (Detal) keine Veränderungen. Zu gegebener Zeit soll über diesjährig gemachte Erfahrungen an dieser Stelle berichtet werden.

Besprechungen

Perotti, R., *Biologia vegetale applicata all'Agricultura. II. Batteriologia*. Turin, Verlag Rosenberg & Sellier, 1943. Seconda Edizione. X + 1057 S. Preis 5600 Lire bzw. 10 Dollar.

Der umfangreiche Band der zweiten Auflage, der von Perotti unter Mitarbeit von Onorato Verona herausgegeben worden und erst jetzt zur Besprechung eingegangen ist, behandelt einleitend nach kurzem historischen Überblick die verschiedenen Methoden der Sterilisation durch trockene und feuchte Hitze, durch Filtration sowie im Kaltverfahren. Es folgen Abschnitte über die chemische Zusammensetzung der Bakterien mit tabellarischer Übersicht über Wasser-, Protein- und N-Gehalt verschiedener Bakterienarten, über die Formen der Bakterien und ihre Variabilität, über die Bakteriendimensionen, wobei auch auf die verschiedenen Mikroskope und ihre Anwendung Bezug genommen und den Ultramikroben sowie der Ultramikroskopie ein besonderer Abschnitt gewidmet ist. Auch die Konstitution der Bakterienzelle ist in einem gesonderten Abschnitt dargelegt, wobei die Arth. Meyersche Einteilung in protoplasmatische Organe, alloplasmatische Organe und ergastische Gebilde beibehalten ist, während das Cytoplasma und der Nukleus wiederum getrennt davon behandelt sind und die Literatur über den „Kern“ bis 1940 Berücksichtigung gefunden hat. In den weiteren Kapiteln — es sind insgesamt 30 — werden unter anderem die Vitalfärbung, Ernährung, Atmung und Fermentation, die Produktion der lebenden Bakterienzelle an Enzymen, Toxinen und anderen

Exkreten, die Säure- und Alkalibildung, Bewegung, Luminiszenz und Farbstoffbildung, die Zellteilung und Sporenbildung und auch die Systematik abgehandelt. Es schließen sich an Ausführungen über den Kreislauf des Kohlenstoffs, Stickstoffs, die Ammonifikation, die Nitri- und Denitrifikation, den Kreislauf des Phosphors, des Schwefels und des Eisens.

Zahlreiche Abbildungen, darunter einige sehr gute farbige, beleben die klaren textlichen Darlegungen auf das Vorteilhafteste, und ein ausführliches Autoren- und Sachregister, das allein etwa 100 Seiten umfaßt, erleichtert die Benutzung dieses beachtlichen Handbuches außerordentlich, das eine gute, wenn auch nicht ganz erschöpfende Übersicht über den wesentlichen Stand der landwirtschaftlichen Bakteriologie bis etwa zum Ausbruch des Krieges bringt und dem eine weite Verbreitung wohl zu wünschen wäre.

Stapp

Perotti, R., Biologia vegetale applicata all' Agricultura. IV.
A. Batteriologia del Terreno. Turin, Verlag Rosenberg & Sellier, 1949. Seconda Edizione. XIV + 394 S. Preis 4000 Lire oder 7 Dollar.

In diesem speziell die Bodenbakteriologie behandelnden Buch wird zunächst auf die natürliche Verbreitung der Mikroorganismen im Boden eingegangen, wobei die verschiedenen Organismengruppen und ihr zahlenmäßiges Vorkommen in den verschiedenen Bodentiefen und ihre Schwankung innerhalb der verschiedenen Jahreszeiten, der Einfluß von Reaktion, Durchlüftung usw. Berücksichtigung finden.

Der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung und den Eigenschaften des „Edaphon“ ist ein besonderes Kapitel gewidmet. In einem weiteren Abschnitt werden die verschiedenen Bodentypen, ihre Charakterisierung und Klassifizierung in klimatischer und geologischer Hinsicht, die einzelnen Bodenhorizonte, ihre Farbabhängigkeit vom Eisen- und Humusgehalt u. a. m. behandelt. Die Vorgänge bei der Humi- und Dehumifizierung nehmen gleichfalls einen breiten Raum ein. Mit der Beeinflussung der Mikroorganismenflora durch die mechanische Bearbeitung des Bodens, durch mineralische und organische Dünger, mit den Mikroorganismen und ihrer Tätigkeit im Dünger, mit theoretischen Darlegungen wie der organischen, mineralischen und „mikroorganischen“ Theorie der Düngung setzt sich Vf. auseinander.

In weiteren Kapiteln wird eingegangen auf die Art des Einflusses der verschiedenen Fruchtfolge auf die Mikroben, auf die Sterilisation und Desinfektion des Bodens und schließlich auf den Begriff der bakteriellen Fruchtbarkeit und die damit im Zusammenhang stehenden technischen Probleme.

Das sehr gut ausgestattete Buch besitzt einen vorzüglichen Sachindex, verliert leider dadurch aber an Wert, daß die neuere Literatur auf diesem immerhin wichtigen Sektor völlig unberücksichtigt geblieben ist.

Stapp

In Band 17, Heft 1, kommen folgende Arbeiten zum Abdruck:

- Gassner, G., Die chemotherapeutische Bewertung von Quecksilberverbindungen in den verschiedenen Beizverfahren
- Gäumann, Braun und Bazzigher, Über induzierte Abwehrreaktionen bei Orchideen
- Meyer, Über den Einfluß von Cadmium auf die Krankheitsbereitschaft des Weizens für *Erysiphe graminis tritici* Marchal
- Baldacci und Forlani, Ricerche sulla specializzazione della *Claviceps purpurea*
- Fiedler, Chlorose des Kaffees in Ostafrika
- Köhler, Über die Bildung nekrotischer Zonen an virusinfizierten Tabakblättern. — Zugleich ein Beitrag zur Frage der Virusbewegung im Blattparenchym

Im Januar 1950 erschien:

B R A U N - R I E H M

Krankheiten und Schädlinge der landwirtschaftlichen und gärtnerischen Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

6. völlig neubearbeitete Auflage herausgegeben von

Dr. H. BRAUN

o. Professor und Direktor des Instituts für
Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

352 Seiten mit 243 Textabbildungen, Halbl. geb. mit
2 farb. Schutzumschlag 22,— DM, kart. 20,— DM

Die in großen Teilen völlig neubearbeitete 6. Auflage des Buches konnte durch die Vereinigung in einer Hand einheitlicher den Erfordernissen der Ausbildung angepaßt werden. Größter Wert ist auf möglichst erschöpfende Beschreibung der Krankheitssymptome gelegt worden, um mit Unterstützung der Bestimmungsschlüssel auch dem Nichtfachmann die richtige Diagnose zu erleichtern. Dem gleichen Zweck dient die Einfügung neuer, besonders charakteristischer Aufnahmen einer ganzen Anzahl von Schadensbildern, die bisher gar nicht oder unbefriedigend illustriert waren. Auf der anderen Seite ist durch eingehende Erörterungen der krankheitsbegünstigenden Umweltbedingungen ein besseres Verständnis für den Wert der Hygiene angestrebt worden, die stets die Grundlage im Kampf gegen Krankheiten und Schädlinge bilden muß. Wer noch tiefer in die oft verwickelten Zusammenhänge eindringen möchte, den leitet die nahezu verdoppelte Anzahl von Literaturhinweisen auf den richtigen Weg. Sie sind so gewählt, daß einmal die neuesten Arbeiten Berücksichtigung gefunden haben und zum anderen solche bevorzugt herangezogen worden sind, die selbst wieder umfassende Literaturzusammenstellungen bringen.

P A U L P A R E Y I N B E R L I N U N D H A M B U R G

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von PAUL SORAUER

Unter Mitarbeit zahlreicher Forscher herausgegeben von

Prof. Dr. h. c. Dr. O. APPEL

Geh. Reg.-Rat, Präsident i. R. der
Biologischen Reichsanstalt für Land- und
Forstwirtschaft in Berlin Dahlem

Prof. Dr. H. BLUNCK

Institut für Pflanzenkrankheiten
in Bonn

I. Band: Die nichtparasitären und Viruskrankheiten

- | | | |
|-----------------------------|------------------------|---------|
| 1. Halbband, 6. Aufl. 1933. | 592 S. m. 123 Textabb. | 46,— DM |
| 2. Halbband, 6. Aufl. 1934. | 553 S. m. 147 Textabb. | 44,— DM |

II. Band: Die pflanzlichen Parasiten 1. Teil

- | | | |
|----------------|------------------------|----------|
| 5. Aufl. 1928. | 758 S. m. 125 Textabb. | 48,60 DM |
|----------------|------------------------|----------|

III. Band: Die pflanzlichen Parasiten 2. Teil

- | | |
|----------------|------------------------|
| 5. Aufl. 1932. | 948 S. m. 195 Textabb. |
|----------------|------------------------|

IV. Band: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen 1. Teil

Soeben erschienen: 5. Aufl. Erscheint in 2 Lieferungen

Lieferung 1: 1950. 427 S. m. 210 Textabb. 38,— DM

Die zweite (Schlußlieferung) wird unter anderem den umfangreichen Abschnitt über die Lepidopteren (Schmetterlinge) enthalten und im Frühjahr 1951 erscheinen

V. Band: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen 2. Teil

5. Aufl. In Vorbereitung, erscheint voraussichtlich 1951

VI. Band: Pflanzenschutz, Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten

- | | | |
|--------------------|-----------------------|---------|
| 1. Halbband. 1939. | 647 S. m. 63 Textabb. | 46,— DM |
| 2. Halbband. 1941. | 730 S. m. 82 Textabb. | 52,— DM |

Jeder Band ist einzeln käuflich.

Das Werk ist das für die Bodenkultur als Handbuch der Pflanzenhygiene grundlegende und in der ganzen Welt maßgebende wissenschaftliche Standardwerk der Pflanzenkrankheiten und des Pflanzenschutzes. Es ist zugleich für die gesamte Weltliteratur das einzige umfassende Handbuch seines Gebietes, das für Jeden, der sich auf wissenschaftlicher Grundlage mit Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz beschäftigt, unentbehrlich ist.

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG